



Microcapteur en arséniure de gallium pour la détection de molécules dans un fluide

Alex Bienaimé

► To cite this version:

Alex Bienaimé. Microcapteur en arséniure de gallium pour la détection de molécules dans un fluide. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université de Franche-Comté, 2012. Français. NNT : 2012BESA2025 . tel-01079726

HAL Id: tel-01079726

<https://theses.hal.science/tel-01079726>

Submitted on 3 Nov 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

SPIM

Thèse de Doctorat



école doctorale **sciences pour l'ingénieur et microtechniques**
UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ

Microcapteur en arséniure de gallium pour la détection de molécules dans un fluide

■ Alex BIENAIME

THÈSE

présentée à

L'UFR DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE L'UNIVERSITÉ DE FRANCHE COMTÉ

pour obtenir le

GRADE DE DOCTEUR
DE L'UNIVERSITÉ DE FRANCHE COMTÉ
spécialité Sciences pour l'ingénieur

Microcapteur en arséniure de gallium pour la détection de molécules dans un fluide

Par

Alex Bienaimé

Soutenue le 11 décembre 2012

devant la commission d'Examen :

Président du jury

Mr. Joël De Coninck

Professeur,
Université de Mons-Hainaut

Rapporteurs

Mr. Joël De Coninck

Professeur,
Université de Mons-Hainaut
Maitre de conférences HDR,
Université de Lorraine

Mr. Frédéric Sarry

Examineurs

Mr. Stéphane Durand

Maitre de conférences HDR,
Université du Mans
Professeur des universités,
Université de Franche Comté

Mr. Jean Francois Manceau

Directeurs de Thèse

Mme. Thérèse Leblois

Professeur des universités,
Université de Franche Comté
Maitre de conférences,
Université de Franche Comté

Mme. Céline Elie-Caille

Remerciements

Je ne peux commencer ce manuscrit sans vous remercier, Thérèse, Céline, de m'avoir offert l'opportunité de réaliser cette thèse mais aussi de m'avoir accompagné et soutenu tout au long de cette aventure. Les échanges scientifiques mais aussi humains que nous avons pu partager m'ont permis de vivre cette expérience dans les meilleures conditions. Je sais que ces échanges continueront bien au-delà de cette expérience et que nous ne perdrons pas contact.

Mes plus vifs remerciements vont à l'ensemble du personnel du laboratoire FEMTO-ST et particulièrement aux membres du département MN2S, notamment son directeur Frederic Cherioux, et aux membres de la plateforme CLIPP pour leur accueil et les moments scientifiques et amicaux que nous avons pu partager. Je tiens aussi à remercier très sincèrement Monsieur le président ainsi que Mesdames et Messieurs les membres du jury de m'avoir fait l'honneur de participer au jury de ma thèse.

J'adresse mes remerciements les plus chaleureux à toutes les personnes qui m'ont aidé au cours de ce projet et m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions, toujours avec bonne humeur. Je remercie donc :

- Le personnel administratif du laboratoire,
- Le service commun électronique, notamment Valérie Pétrini, Philippe Abbé et Yannick Gruson,
- Le service commun mécanique, tout particulièrement Emmanuel Dordor,
- Le staff de la salle blanche, spécialement J.Y Rauch, Valérie Pétrini, Etienne Herth et J-C Jeannot,
- L'ensemble des membres du département MN2S : la liste serait trop longue !
- L'ensemble de la dream team CLIPP : Fabien Remy-Martin, Alain Rouleau, Benoit Simon, Rabah Zeggari, Marven Elostá, Géraldine Lucchi, Delphine Pecqueur, Caroline Truntzer, Patrick Ducoroy, Wilfrid Boireau.

Je profite aussi de cette tribune pour remercier vivement tous les stagiaires, doctorant, post-doctorant, enseignant-chercheurs ou chargés de recherche avec qui j'ai pu partager de bons moments que se soit à mon bureau ou simplement autour d'un bon café. J'adresse une mention particulière à Faten, Sofiane, Aurélie, Alain, Benoit, Rabah, Khaled, Mohamed, Aliyasin, Vivien, Alexia, Guillaume et Fabien, mon petit préféré, pour toutes ces bonnes discussions rarement scientifiques.

En dehors du cadre professionnel, j'ai une pensée particulière pour celles et ceux qui m'ont entouré à titre familial ou amical et bien sûr à Luce, Naé et bientôt Timéo.

Grâce à tous, je garderai un excellent souvenir de ces trois années sans oublier le cadre exceptionnel dans lequel elles se sont déroulées.

Sommaire

| | |
|--|-----|
| Remerciements | iii |
| Introduction..... | 1 |
| 1 Positionnement du biocapteur GaAs | 3 |
| 1.1 Les biocapteurs, introduction..... | 3 |
| 1.1.1 Historique | 3 |
| 1.1.2 Définition..... | 4 |
| 1.2 La couche biologique sensible, les biorécepteurs..... | 6 |
| 1.2.1 Les biorécepteurs catalytiques..... | 7 |
| 1.2.2 Les biorécepteurs d'affinité..... | 8 |
| 1.2.3 Les biorécepteurs biomimétiques..... | 10 |
| 1.3 Interface biorécepteur – transducteur : techniques d'immobilisation des biomolécules.... | 11 |
| 1.3.1 Adsorption physique ou chimique sur la surface | 11 |
| 1.3.2 Greffage covalent sur la surface..... | 12 |
| 1.3.3 Inclusion ou piégeage..... | 13 |
| 1.3.4 Choix d'une interface de biorecognition | 14 |
| 1.4 Méthodes de transduction..... | 15 |
| 1.4.1 Transduction optique | 16 |
| 1.4.2 Transduction électrochimique | 20 |
| 1.4.3 Transduction par variation de masse | 23 |
| 1.5 Miniaturisation des dispositifs | 31 |
| 1.5.1 Définitions | 32 |
| 1.5.2 Intérêts | 32 |
| 1.5.3 Les réseaux de capteurs | 33 |
| 1.6 L'arséniure de Gallium pour une application biocapteur miniature..... | 35 |
| 1.6.1 Propriétés | 35 |
| 1.6.2 Miniaturisation | 36 |
| 1.6.3 Propriétés surfaciques et micro/nano-structuration | 38 |
| Conclusion : Architecture du biocapteur | 38 |
| Références..... | 42 |
| 2 Principe et modélisation du transducteur piézoélectrique d'arséniure de gallium..... | 49 |
| Introduction..... | 49 |
| 2.1 Résonateur piézoélectrique en Arséniure de Gallium | 50 |
| 2.1.1 Principe..... | 50 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 2.1.2 | Effet piézoélectrique et génération d'une onde acoustique | 51 |
| 2.1.3 | Propagation d'une onde acoustique | 51 |
| 2.1.4 | Types d'ondes pouvant être générées | 54 |
| 2.1.5 | Utilisation de l'effet piézoélectrique du GaAs pour la réalisation de résonateurs ou de capteurs | 56 |
| 2.1.6 | Démarche | 56 |
| 2.2 | Expression tensorielle de la piézoélectricité | 57 |
| 2.2.1 | Considération mécanique | 57 |
| 2.2.2 | Considération électromagnétique..... | 58 |
| 2.2.3 | Couplage mécanique-électrique : la piézoélectricité | 58 |
| 2.2.4 | Simplification | 59 |
| 2.2.5 | Influence de l'orientation cristalline | 61 |
| 2.3 | Coefficient de couplage électromécanique..... | 63 |
| 2.3.1 | Equation de propagation..... | 63 |
| 2.3.2 | Coefficient de couplage | 67 |
| 2.3.3 | Considération géométrique | 68 |
| 2.3.4 | Méthode de calcul..... | 72 |
| 2.3.5 | Résultats | 74 |
| 2.4 | Fréquence de résonance du résonateur | 76 |
| 2.5 | Modélisation du résonateur non chargé à onde de volume..... | 80 |
| 2.5.1 | Choix du modèle utilisé | 80 |
| 2.5.2 | Le modèle électromécanique : le modèle de Mason | 82 |
| 2.5.3 | Le modèle électrique : le modèle de Butterworth-Van Dyke (BVD) | 83 |
| 2.5.4 | Analyse par éléments finis..... | 89 |
| 2.6 | Modélisation du résonateur chargé | 91 |
| 2.6.1 | Effet de l'ajout de masse | 91 |
| 2.6.2 | Effet de l'interface avec un milieu liquide..... | 94 |
| 2.6.3 | Mesure de couche biologique | 96 |
| 2.6.4 | Modélisation..... | 96 |
| 2.6.5 | Sensibilité maximale pouvant être obtenue avec une membrane fine | 99 |
| | Conclusion | 105 |
| | Références..... | 108 |
| 3 | Microfabrication | 113 |
| | Introduction..... | 113 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 3.1 | Fabrication de microsystemes en GaAs | 114 |
| 3.1.1 | Les différents types de substrat | 114 |
| 3.1.2 | Usinage surfacique | 115 |
| 3.1.3 | Usinage en volume du substrat..... | 116 |
| 3.1.4 | Combinaison des deux précédentes techniques..... | 120 |
| 3.1.5 | Choix des techniques d'usinage utilisées pour la fabrication du biocapteur..... | 121 |
| 3.2 | Gravure humide de l'arséniure de gallium..... | 123 |
| 3.2.1 | Cinématique de la gravure humide | 123 |
| 3.2.2 | Comportements des réactions et paramètres influents | 126 |
| 3.2.3 | Composition d'une solution d'attaque..... | 129 |
| 3.2.4 | Présélection d'une solution d'attaque | 131 |
| 3.3 | Caractérisations expérimentales des solutions de gravure | 133 |
| 3.3.1 | Protocole | 133 |
| 3.3.2 | Vitesses de gravure des solutions dans le plan (100)..... | 134 |
| 3.3.3 | Propriétés topographiques de la surface de GaAs (100) usinée par gravure humide | 137 |
| 3.3.4 | Choix des solutions de gravure et conditions environnementales | 139 |
| 3.3.5 | Estimation des profils et dimensionnement du masque | 140 |
| 3.4 | Fabrication des dispositifs | 145 |
| 3.4.1 | Stratégie d'usinage | 145 |
| 3.4.2 | Protocole complet de fabrication..... | 147 |
| 3.4.3 | Montage expérimental d'usinage | 152 |
| 3.4.4 | Résultats | 155 |
| 3.5 | Micro structuration de la surface d'arséniure de gallium | 159 |
| 3.5.1 | Influence de la composition du bain | 159 |
| 3.5.2 | Influence de la concentration du bain | 162 |
| 3.5.3 | Plans cristallins | 164 |
| 3.5.4 | Influence de la température et de l'agitation | 166 |
| 3.5.5 | Microstructuration de la membrane..... | 168 |
| 3.5.6 | Intérêt d'une microstructuration spécifique..... | 169 |
| | Conclusion | 173 |
| | Références..... | 175 |
| 4 | Développements de l'interface de biorecognition | 181 |
| | Introduction..... | 181 |
| 4.1 | Conception d'une biointerface..... | 182 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 4.1.1 | Interface transducteur / biorécepteurs : les monocouches auto-assemblées (SAM) | 182 |
| 4.1.2 | Fonctionnalisation de la surface d'arséniure de gallium pour une application biocapteur | 183 |
| 4.1.3 | Chimisorption et auto-assemblage de molécules thiolées à la surface de l'arséniure de gallium : formation d'une monocouche auto-assemblée. | 184 |
| 4.1.4 | Immobilisation protéique par l'intermédiaire d'une SAM | 188 |
| 4.1.5 | Stratégie utilisée..... | 191 |
| 4.2 | Protocole expérimental et méthodes de caractérisation | 193 |
| 4.2.1 | Stratégie | 193 |
| 4.2.2 | Protocole de fonctionnalisation chimique et de greffage protéique sur GaAs..... | 196 |
| 4.2.3 | Méthodes de caractérisation | 198 |
| 4.3 | Caractérisations de la surface d'arséniure de gallium fonctionnalisée..... | 203 |
| 4.3.1 | Tension de surface..... | 204 |
| 4.3.2 | Mesure de l'épaisseur par ellipsométrie | 205 |
| 4.3.3 | Composition atomique de l'interface chimique..... | 206 |
| 4.3.4 | Topographie, homogénéité et rugosité de la couche fonctionnalisée | 210 |
| 4.4 | Greffage protéique sur la surface de GaAs fonctionnalisée – Influence de l'interface chimique sur le greffage..... | 212 |
| 4.4.1 | Modifications topographiques | 212 |
| 4.4.2 | Greffage protéique sur différentes interfaces chimiques | 213 |
| 4.4.3 | Liaison protéine-surface : liaison covalente ou physisorption ? | 215 |
| 4.4.4 | Epaisseur des couches protéiques et thiolées | 218 |
| 4.4.5 | Analyses <i>in situ</i> MALDI-TOF MS et MS ² des protéines sur la surface de GaAs : identification et répartition surfacique | 221 |
| 4.4.6 | Densité des sites d'accroches carboxyles et conséquences sur la reconstitution d'une couche protéique sur la surface de GaAs (100) | 226 |
| | Conclusion | 228 |
| | Références..... | 230 |
| 5 | Tests du dispositif, développement des interfaces électriques et fluidiques, mise en œuvre du banc de mesure..... | 235 |
| | Introduction..... | 235 |
| 5.1 | Réalisation d'un banc de mesure dédié pour la caractérisation de biocapteurs résonants | 236 |
| 5.1.1 | Instrumentation et conditionnement du capteur | 236 |
| 5.1.2 | Enceinte sous vide intégrant un système de chauffage/refroidissement..... | 239 |
| 5.1.3 | Régulation en température | 240 |
| 5.1.4 | Circuit fluide | 242 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 5.1.5 | Circuit électrique | 244 |
| 5.2 | Conception des interfaces fluide et électrique | 244 |
| 5.2.1 | Interface électrique | 246 |
| 5.2.2 | Interface fluide | 247 |
| 5.2.3 | Interfaces pour application nomade | 254 |
| 5.3 | Premiers essais réalisés sur des résonateurs à membranes | 255 |
| 5.4 | Caractérisations « en bulk » | 261 |
| 5.4.1 | Mesure en air | 261 |
| 5.4.2 | Résonateur chargé sur une face par un liquide | 264 |
| 5.4.3 | Mesure d'une masse de résine déposée sur la surface sensible | 268 |
| | Conclusion | 269 |
| | Références..... | 270 |
| | Conclusion générale | 271 |
| | Lexique | 273 |
| | Résumé..... | 275 |
| | Abstract | 275 |

Introduction

Les biocapteurs sont aujourd'hui de plus en plus sophistiqués et intégrés. Ils permettent de quantifier de manière fiable, rapide et précise certains processus biologiques. Pour répondre à la grande diversité des processus biologiques à quantifier, les systèmes développés intègrent différents éléments de reconnaissance et de transduction.

Dans le domaine médical, la recherche de biomarqueurs est un point clé pour le dépistage ou le diagnostic de maladies. Deux techniques sont principalement employées aujourd'hui pour détecter puis quantifier ces biomarqueurs en assurant un suivi en temps réel et sans marquage: une technique optique, la résonance des plasmons de surface (SPR), et une technique gravimétrique, la microbalance à quartz (QCM). Souvent mises en concurrence, ces deux techniques possèdent chacune leurs avantages et inconvénients ; l'inconvénient majeur des techniques SPR réside dans leur encombrement qui ne permet pas d'envisager des applications nomades. Au contraire, les techniques de mesure de masse, comme les QCM, sont généralement de petites dimensions et sont facilement intégrables.

Les QCM constituent un cas particulier de biocapteur. Ce biocapteur est une microbalance piézoélectrique dans lequel le matériau actif est le quartz. Présenté en 1959 par Sauerbrey, le modèle initial a été enrichi par de nombreux auteurs pour permettre des mesures en milieu liquide puis pour une application en temps que biocapteur. Ces dispositifs utilisent l'effet piézoélectrique du substrat pour exciter et détecter des ondes acoustiques de volume via des électrodes déposées sur le substrat. Les ondes retenues sont des ondes de cisaillement d'épaisseur qui autorisent une utilisation en milieu liquide avec un haut niveau de sensibilité. L'utilisation des dispositifs résonants en tant que biocapteur nécessite sur la zone active le dépôt d'une couche sensible sur laquelle viendront se greffer les espèces à détecter. Il s'en suivra alors une modification du signal acoustique (atténuation, décalage en fréquence).

Dans les travaux présentés ici, nous avons choisi l'arséniure de gallium (GaAs) comme matériau piézoélectrique. En effet, bien que ses constantes piézoélectriques soient légèrement inférieures à celles du quartz, ses propriétés mécaniques sont supérieures et il existe un grand nombre de procédés de microfabrication qui permettent dans ce matériau de réaliser des structures très fines. Parmi elles, notons qu'il existe des procédés de microfabrication collectifs, réduisant ainsi les coûts de fabrication. De plus, de nombreuses techniques de biofonctionnalisation de sa surface sont possibles permettant ainsi la fixation de quantités importantes de biorécepteurs pouvant être de natures variées. La fonctionnalisation directe du substrat sur le GaAs est un atout car, par une régénération de la surface, il sera possible d'envisager plusieurs analyses successives avec un même dispositif.

Ce mémoire présente les travaux de recherche concernant la modélisation, conception, microfabrication du transducteur et de la biointerface afin de réaliser un microcapteur en arséniure de gallium pour la détection de molécules d'intérêt en milieu biologique.

Le chapitre 1 replace notre étude dans le contexte des grandes catégories de biocapteurs existants. Cet état de l'art fait le point sur les différents types de biorécepteurs, sur les méthodes de transduction utilisées ainsi que sur les techniques d'immobilisation permettant de lier les biorécepteurs au transducteur. Cette partie montre aussi l'intérêt de miniaturiser les capteurs et les propriétés intéressantes du matériau pour la réalisation d'un biocapteur miniature bas coût et hautement sensible. Ce chapitre se conclue sur l'élaboration du cahier des charges de notre capteur.

Le chapitre 2 s'attache plus particulièrement à la modélisation du biocapteur. Après avoir rappelé l'expression tensorielle de la piézoélectricité, nous déterminons les coupes et les orientations cristallines optimales en vue d'obtenir un coefficient de couplage électromécanique maximum. Nous développons ensuite la modélisation analytique de notre capteur et déterminons les paramètres géométriques de sa structure. Nous décrivons le comportement du dispositif en lui associant le modèle de Butterworth Van Dyke en air puis soumis à une charge ou en présence de liquide sur la surface sensible. Nous estimons enfin la sensibilité maximale de notre dispositif.

Le chapitre 3 est consacré à la microfabrication. La première partie de ce chapitre permettra de rappeler différentes méthodes de microfabrication utilisées pour la réalisation de microstructures en arséniure de gallium. Nous détaillerons le processus retenu qui est la gravure humide. Une caractérisation complète et systématique des facteurs influants du procédé de gravure est présenté en vue de déterminer le meilleur protocole à utiliser pour la fabrication de la structure du biocapteur. Dans une dernière partie, nous montrons qu'il est possible, par usinage chimique, d'obtenir une structuration particulière de la surface d'échange contribuant ainsi à l'amélioration de la sensibilité de détection.

Le chapitre 4 présente les développements réalisés sur l'interface de biorecognition. Nous présentons dans un premier temps les techniques de fonctionnalisation de surface et de greffage protéique appliquées à l'arséniure de gallium pour en déduire la stratégie retenue pour notre étude. Nous détaillons ensuite les procédures de fonctionnalisation de surface, de greffage protéique ainsi que les méthodes de caractérisation retenues. Après avoir montré le bon établissement de l'interface chimique de fonctionnalisation, nous caractérisons le greffage de protéine sur cette interface que nous optimisons afin de présenter un maximum de sites de reconnaissance à la surface de notre échantillon.

Enfin, dans le dernier chapitre, nous présentons les premiers résultats obtenus avec les dispositifs réalisés. Après avoir défini le banc d'instrumentation nécessaire pour la caractérisation des dispositifs, nous détaillerons les développements réalisés sur les interfaces électriques et fluidiques. Dans la dernière partie, nous analysons les résultats des essais préliminaires en air, en liquide pour valider le comportement de la structure.

1 Positionnement du biocapteur GaAs

1.1 Les biocapteurs, introduction

1.1.1 Historique

Depuis l'apparition en 1962 de la première électrode à enzyme de Clark [1], les biocapteurs connaissent un essor grandissant. Ce chapitre dresse un état des lieux des différentes technologies utilisées et classifie les différents types de biocapteurs, de la recherche fondamentale au produit commercialisé.

Souvent pris à titre d'exemple, les canaris utilisés par les mineurs en 1911 pour détecter les fuites de gaz ne peuvent être réellement considérés comme les premiers biocapteurs. Il faut attendre les années 1960 avec les papiers de Clark et Lyons [1], Guilbault et al [2], Updike et Hicks [3] et Guilbault et Montalvo [4] pour voir l'apparition des premiers réels biocapteurs. L'électrode ampérométrique permettant la détection du glucose développée par Clark [1] a permis la commercialisation d'une première génération de biocapteur à glucose en 1975 sous le nom « Yellow Springs instruments glucose biosensor » [5] puis d'une seconde génération en 1987 avec le stylo à glucose sanguin ExacTech développé par Medisense® qui connaît un énorme succès commercial. Ce premier succès a ouvert la voie à de nombreuses études qui ont permis le développement de systèmes permettant de suivre des interactions de biomolécules cibles (enzymes, acides désoxyribonucléiques, anticorps, cellules, virus,...) et molécules (acides aminés, ions métalliques) avec leurs molécules complémentaires [6]. A titre d'exemple, nous pouvons citer d'autres succès commerciaux comme les immunocapteurs à résonance plasmonique de surface développés en 1983 par Liedberg [7] et commercialisés par la firme BIACore® en 1990 ou le système de diagnostic sanguin portable i-STAT® développé par Abbott®. Aujourd'hui, de nouveaux biocapteurs se développent en utilisant les dernières avancées des nanotechnologies [8] telles que les nanoparticules, les nanofils, les nanotubes, quantum dots, etc...

Comme illustré dans les exemples précédents, nous voyons qu'une grande partie des biocapteurs développés sont conçus pour une application médicale ou clinique [6]. Cependant, l'adaptabilité de ces dispositifs a permis d'envisager de nombreuses applications dans d'autres domaines, l'agriculture, l'agroalimentaire [9], l'environnement [10] et le domaine militaire [11]. Par exemple, après les événements du 11 Septembre 2001, la menace du bioterrorisme (Anthrax) a engendré une nette progression de la recherche dans le domaine militaire et, plus récemment, les problèmes environnementaux, notamment sur la qualité de l'eau, retiennent toute l'attention des chercheurs et ingénieurs. Citons parmi eux le système commercial RODTOX [12] qui évalue le degré de toxicité des eaux, ou encore d'autres biocapteurs qui évaluent le taux de cyanides [13], de polychlorobiphényle (PCB) [14] ou encore de composés phosphoro-organiques [15]. Concernant la sécurité alimentaire, de nombreuses équipes travaillent sur la détection de salmonelle [16] ou encore de la bactérie *Escherichia Coli*, comme le capteur commercial MIDASORI (Biosensori SpA, Italie) [17].

La commercialisation de dispositifs à petite ou grande échelle est néanmoins très en retard à cause de considérations financières ou à cause de verrous technologiques comme la stabilité de

détection ou la sensibilité. La réduction des coûts de production, l'automatisation et le multiplexage des tâches ainsi que le bon fonctionnement des dispositifs dans un environnement « complexe » sont autant de contraintes à prendre en compte pour réaliser un système commercialisable performant. Cependant, au regard des investissements réalisés en recherche et développement de biocapteurs et le nombre impressionnant de publications et de brevets (Figure 1.1), le nombre de ces dispositifs devraient continuer à augmenter les prochaines années. Un rapport de la société Takeda Pacific prévoit que le marché des biocapteurs devrait atteindre 16.4 milliards de dollars d'ici 2013 alors qu'il était de 7.8 milliards en 2005 [18].

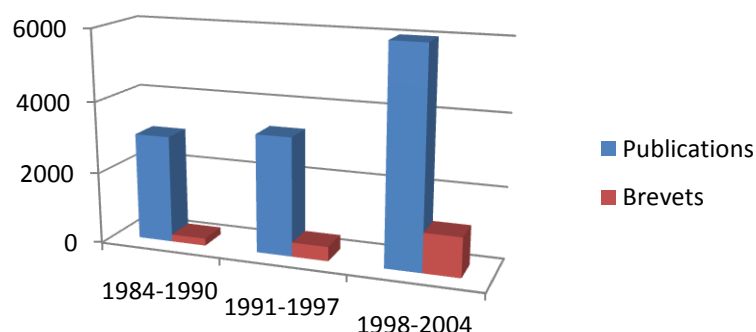


Figure 1.1 - Nombre de publications et de brevets entre 1984 et 2004 [19]

1.1.2 Définition

Dans la littérature, deux articles de référence définissent le terme de biocapteur. Pour Higson [20], « un biocapteur est un dispositif de détection chimique dans lequel une entité de reconnaissance biologique est couplée à un transducteur permettant de suivre l'évolution quantitative d'un ou plusieurs paramètre(s) biochimique(s) complexe(s) » et, d'après Fraser [21], « un biocapteur est un dispositif analytique combinant de façon intime et délibérée un élément biologique spécifique (qui crée un événement de reconnaissance) et un élément physique (qui traduit l'évènement de reconnaissance) ». En d'autre terme, un biocapteur est communément défini comme un dispositif analytique qui est très employé pour la détection de molécules, macromolécules et atomes cibles biologiques (analyte). Il est généralement constitué de trois composants principaux (Figure 1.2) : un élément de reconnaissance biologique (ou couche biologique sensible) réalisant l'interaction spécifique avec l'analyte, un transducteur qui traduit l'interaction en un signal mesurable (électrique) et un système d'enregistrement capable d'analyser et de traiter les signaux émis.

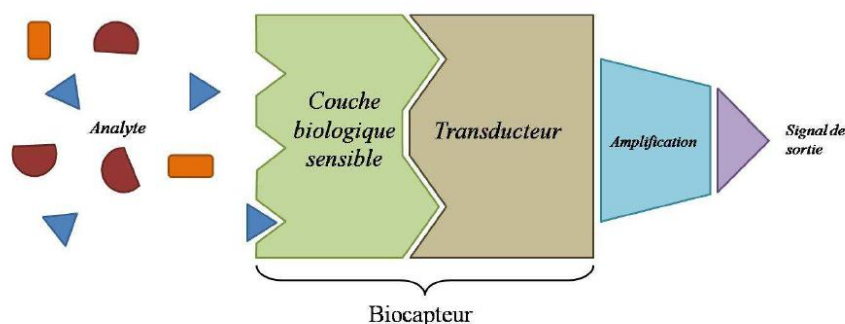


Figure 1.2 - Schéma de principe d'un biocapteur [11]

Ces définitions introduisent les caractéristiques clés d'un biocapteur :

- **La sensibilité** : c'est l'aptitude du capteur à déterminer de faibles variations d'une grandeur que l'on souhaite mesurer. Elle dépend directement des caractéristiques du transducteur et va permettre de transformer chaque événement de reconnaissance biologique en un signal mesurable, ici électrique.
- **La sélectivité** : C'est la capacité de la couche sensible à sélectionner un élément cible (analyte) parmi un environnement biologique complexe.

Combinés à ces deux propriétés, la miniaturisation, le faible coût des dispositifs et le temps de réponse très court sont des caractéristiques essentielles des dispositifs en vue de leur industrialisation. Les multiples domaines concernés ont nécessité des expertises multidisciplinaires et ont permis la mise au point des dispositifs adaptés à chaque problématique. Une classification des différents types de biocapteurs est dès lors possible en les distinguant par leur couche sensible et/ou par l'élément de transduction utilisé (Figure 1.3). De nombreuses terminologies sont apparues pour désigner ces biocapteurs faisant référence à leurs différents domaines d'application : immunocapteur, optode (ou optrode), « chemical canaries », miroirs résonants, glucomètre, biopuces... etc... Par la suite, nous dresserons un descriptif des différentes couches biologiques et des moyens de transduction. Nous nous focaliserons ensuite sur les biocapteurs miniaturisés, les BioMEMS, et sur les techniques de fabrication. Enfin nous décrirons brièvement le cahier des charges de notre biocapteur en Arséniure de Gallium.

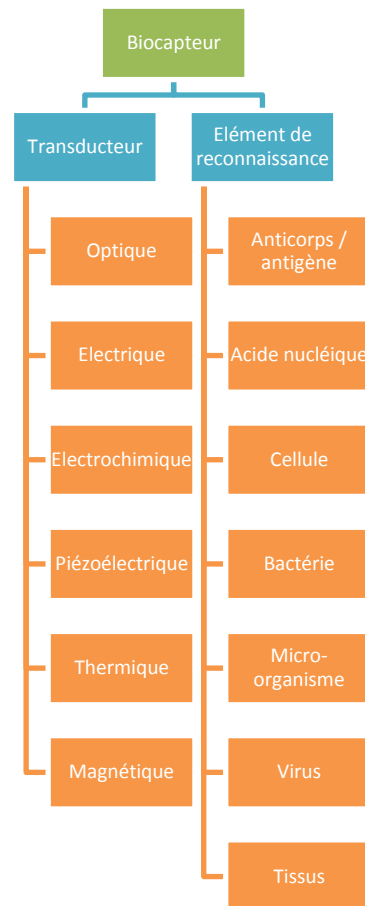


Figure 1.3 - Classification des biocapteurs suivant le type de détection et leur élément sensible de reconnaissance

1.2 La couche biologique sensible, les biorécepteurs

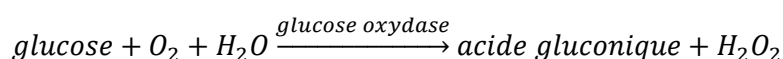
La couche biologique sensible est la clé de la spécificité de la reconnaissance biologique. Elle est constituée d'éléments de reconnaissance, les biorécepteurs, fixés à la surface du capteur par une technique d'immobilisation ou de piégeage. L'analyte cible est alors capturé par ces biorécepteurs, générant un signal physico-chimique qui sera ensuite traduit en signal exploitable par le transducteur. Cette couche sensible doit avoir une sélectivité maximale afin de limiter les interactions non désirées appelées interactions non-spécifiques.

Il n'est pas possible de dresser une liste exhaustive de biorécepteurs car il en existe autant que d'analytes potentiellement détectables. Nous pouvons cependant définir trois catégories de biorécepteurs: les récepteurs catalytiques ou enzymatiques, les récepteurs d'affinité et les récepteurs biomimétiques [22]. A ces trois classes, Vo-Dinh et Cullum [23] ajoutent les récepteurs à acides nucléiques et à cellules mais qui peuvent, suivant le cas, être reclassés parmi celles citées précédemment.

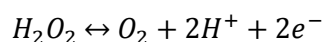
1.2.1 Les biorécepteurs catalytiques

Les biorécepteurs catalytiques utilisent la catalyse comme moyen de détection, c'est-à-dire l'action d'une substance appelée catalyseur sur une transformation chimique dans le but d'augmenter sa vitesse de réaction. Les catalyseurs principalement utilisés dans les biocapteurs sont des enzymes, ce qui explique le nom de biorécepteur enzymatique que nous retrouvons dans de nombreux ouvrages. Une enzyme est une protéine possédant une structure spécifique qui lui permet de catalyser une réaction bien définie. Cette sélectivité de bioreconnaissance, conjuguée avec leur forte activité à de faible concentration (plusieurs milliers de molécules produites par seconde^[24]), fait des biorécepteurs enzymatiques un moyen de détection très utilisé et miniaturisable. Deux types de détection sont possibles : soit en dosant directement l'analyte reconnu alors directement par l'enzyme (le substrat), soit en dosant un (des) produit(s) issu(s) de l'activité enzymatique.

L'exemple historique de l'électrode à glucose de Clark ^[1] est certainement le plus répandu. L'oxydation du glucose est catalysée par la présence de glucose oxydase pour former l'acide gluconique.



La conversion du glucose en acide gluconique est alors détectée par ampérométrie du fait du transfert d'électrons lors de la réaction qui permet un suivi de l'oxydation de H_2O_2 :



Ce modèle n'a cessé d'évoluer au cours des années. Les glucomètres commerciaux actuels, dits de seconde génération, utilisent la même détection mais en utilisant un agent « électron médiateur », comme par exemple un dérivé de ferrocène, qui permet de régénérer le capteur ^[5]. Plus récemment, Rosenzweig et Kopelman ^[25] ont développé un glucomètre micrométrique détectant la consommation d'oxygène dans la réaction ci-dessous grâce à un polymère dont la fluorescence dépend de la quantité d'oxygène. Les dimensions (réduction d'un facteur 100), la limite de détection de 10^{-15} mole et le temps de réponse de 2 secondes montrent les possibilités de miniaturisation et le niveau de performance atteint.

La structure protéique de l'enzyme, qui lui confère son caractère sélectif, est cependant très instable et varie fortement en fonction des conditions environnementales comme les conditions de pH. La température va aussi influencer grandement les vitesses de réaction. Il est donc nécessaire de contrôler précisément les conditions environnementales si on souhaite conserver une précision suffisante des résultats, montrant ainsi les limites de cette catégorie de biorécepteur.

1.2.2 Les biorécepteurs d'affinité

Les réactions d'affinité sont caractérisées par une nature de liaison très spécifique et forte, avec une constante de liaison de 10^9 - 10^{12} M⁻¹. Cette liaison très forte, quasi irréversible, permet de détecter de faibles quantités d'analyte avec une sensibilité de 10^{-6} à 10^{-9} M, 1000 fois supérieure aux systèmes catalytiques [22]. De plus, du fait de la nature différente des réactions, Lowe et al. [26] montrent que les récepteurs d'affinité auront tendance à être saturés dans le cas de récepteur d'affinité alors que les réactions catalytiques seront plutôt réversibles. On distingue deux types de biorécepteurs d'affinité : les anticorps/antigènes que nous allons détailler ici et l'ADN (Acide désoxyribonucléique) dont la réaction d'affinité se fait grâce à la complémentarité des séquences de bases azotées qui constituent ses deux brins.

Les immunoglobulines (anticorps) sont les principaux biorécepteurs d'affinité utilisés. Ils sont sélectifs d'une catégorie d'anticorps donnée, possèdent une forte affinité et sont faciles à produire. Les anticorps sont des glycoprotéines produites par le système immunitaire des mammifères en réponse à l'introduction d'une molécule, hormone, virus, bactérie,... étrangère au corps (antigènes). La réaction entre l'antigène et son anticorps spécifique est souvent assimilée par analogie à un système de clé et de serrure : seule la structure géométrique unique d'une clé est capable d'ouvrir la serrure. C'est cette interaction unique entre l'antigène et l'anticorps qui est utilisée dans les immunocapteurs pour détecter la présence de l'analyte d'intérêt, l'antigène, qui vient se lier aux sites de liaison de l'anticorps.

Les anticorps sont des biomolécules complexes composées de centaines d'acides aminés séquencés dans un ordre très spécifique. Leur structure est généralement représentée sous forme de Y, la barre verticale du Y représentant la partie constante (F_c) et les deux barres obliques les deux parties dits variables, possédant les sites d'accroches pour l'antigène (F_{ab}) (Figure 1.4).

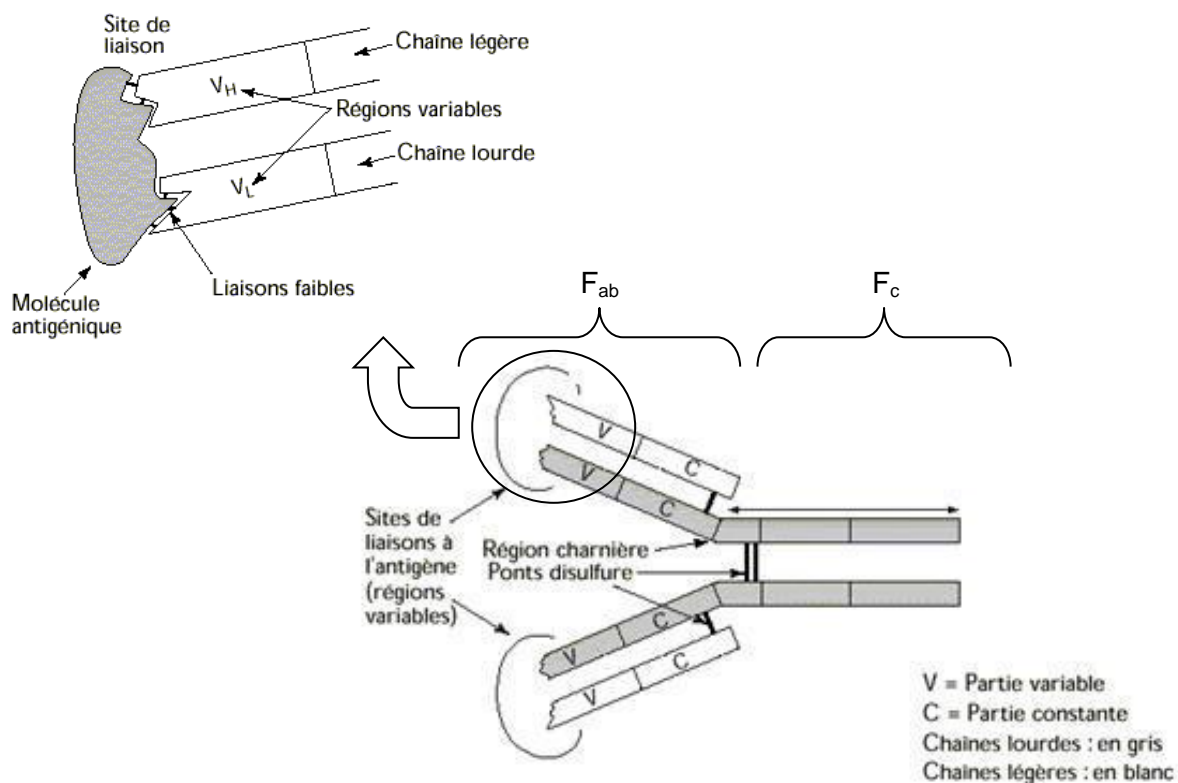


Figure 1.4 - Représentation schématique d'un anticorps et d'un paratope [27]

Les fragments F_{ab} , composés d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère, possèdent une région dite variable (appelée aussi paratope) où les acides aminés sont organisés de façon à créer un site d'accroche spécifique à un antigène. Il y a donc deux sites d'accroche par anticorps. Le fragment F_c est lui commun à tous les anticorps d'un même mammifère et est composé de deux chaînes lourdes. La structure des anticorps comporte de nombreuses fonctions amines ($-NH_2$) et carboxyles ($-COOH$) utilisées entre autres pour immobiliser les anticorps à la surface des transducteurs.

Particulièrement adapté à la reconnaissance d'analytes présents en très faible quantité dans des fluides biologiques, ce moyen de détection est très utilisé dans les biocapteurs, notamment pour des applications à visée diagnostique clinique [6]. Il est notamment très utilisé avec des capteurs de masse, qui mesurent la variation de masse à la surface du transducteur induite par le couplage anticorps / antigènes. Les biocapteurs les plus communément rencontrés sont les microbalances à quartz (QCM) [28] et ceux basés sur des phénomènes de résonance plasmonique de surface [29] comme le système commercial BIAcore®. Ces capteurs sans marquage et temps-réel permettent la détection d'analytes avec une haute sensibilité, de l'ordre de quelques femtomoles, et sont utilisés dans le dépistage de biomarqueurs spécifiques pour de nombreuses applications diagnostiques [30, 31].

Bien qu'il soit possible de rompre le complexe anticorps / antigènes par saut de pH par exemple, l'affinité et la spécificité du récepteur sont alors modifiées ce qui engendre que ces types de récepteurs sont la plupart du temps utilisés dans une approche à usage unique. Cette contrainte

supplémentaire nécessite de prévoir une partie jetable (puce) ou des possibilités de régénérer la surface active du capteur du fait du coût important du système de détection.

1.2.3 Les biorécepteurs biomimétiques

Ces récepteurs sont conçus et fabriqués pour mimer un biorécepteur naturel avec la même affinité et spécificité. Plusieurs méthodes de fabrication ont été mises au point pour fabriquer ces biorécepteurs. Parmi-elles, nous retrouvons :

- des membranes artificielles : des éléments actifs sont incorporés dans une matrice, comme par exemple des gangliosides dans une matrice de lipides acétyléniques [32].
- des molécules génétiquement modifiées : ces molécules sont modifiées grâce à des procédés de biologie moléculaire, qui permettent la synthèse ou la transformation de site actif, conférant une fonctionnalité non présente à l'origine sur la molécule. Hellinga et al. [33] introduisent par exemple une biotine sur un fragment d'IgA afin de le greffer sur une monocouche de streptavidine.
- des polymères à empreinte moléculaire. Des monomères actifs sont autoassemblés sur une molécule cible. Le complexe auto-assemblé est ensuite polymérisé avant de retirer la molécule cible ayant servi à la fabrication. La molécule cible peut être à nouveau réintroduite pour la détection dans le polymère caractérisé par une mémoire de forme et une sélectivité de liaisons (Figure 1.5). Le retrait / inclusion peut être répété autant de fois que nécessaire. Un exemple est donné par K. Haupt et al. [34], qui utilise des polymères à empreinte moléculaire pour détecter du S-propanolol avec une microbalance à quartz.

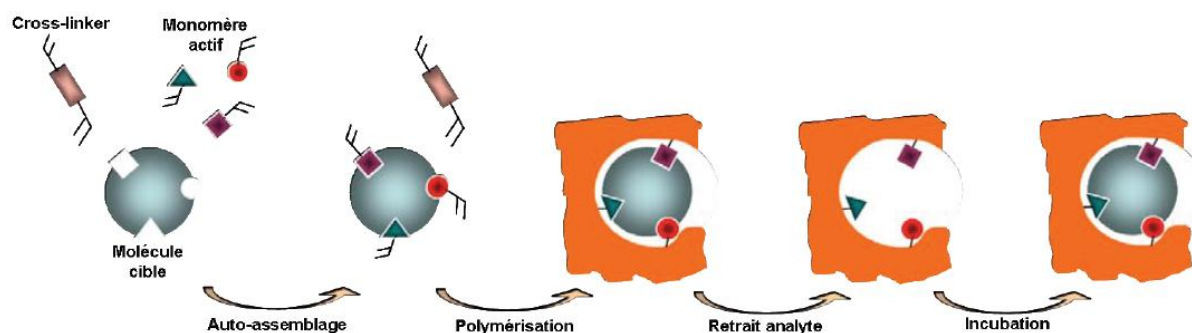


Figure 1.5 - Fabrication d'un polymère à empreinte moléculaire [35]

Ce dernier type d'interface a connu un engouement grandissant ces dernières années. Il possède l'avantage d'être beaucoup moins fragile que les biorécepteurs naturels, car moins sensibles aux perturbations thermiques, ou aux variations de pH, ce qui leurs confèrent des propriétés de stabilité, de robustesse et de reproductibilité très intéressantes [36]. Ils combinent les caractéristiques des récepteurs catalytiques et d'affinité qui leurs permettent d'atteindre des détections dans une gamme de 10^{-12} à 10^{-15} M [22]. Cependant, la faible variété des molécules cibles limite les possibilités, la taille et la complexité des protéines étant un frein à l'avancement de ces recherches. On retrouve

tout de même des biocapteurs fiables mimant de petites molécules dans l'analyse environnementale [37] et les applications thérapeutiques [38].

1.3 Interface biorécepteur – transducteur : techniques d'immobilisation des biomolécules

Un des facteurs clé dans la fabrication d'un biocapteur est la capacité d'intégrer les éléments biologiques sensibles avec l'élément de transduction. Cette interface va conditionner le bon fonctionnement du capteur car elle doit être sélective. Pour cela, elle doit à la fois présenter un maximum de sites de reconnaissance et réduire les interactions non-spécifiques avec la surface afin de permettre la détection d'une faible quantité d'analyte sans réagir avec les autres molécules présentes dans le milieu d'analyse, généralement complexe. Pour cela, les biorécepteurs doivent [22] :

- conserver leur activité biologique une fois accrochés sur la surface
- être accrochés fermement à la surface du capteur sans que l'immobilisation n'altère leur structure ni leur fonctionnalité pour résister aux conditions environnementales (température, pH, pression,...)
- être immobilisés de manière stable et durable dans le temps
- avoir un haut niveau de spécificité envers l'analyte d'intérêt.

Dès lors qu'une condition énoncée précédemment ne sera plus respectée, la sensibilité du biocapteur sera immédiatement diminuée. Comme nous l'avons vu précédemment, les sites actifs des molécules sont situés à des endroits bien précis, il est donc par exemple nécessaire de conserver une certaine orientation de ces molécules pour que les sites actifs soient toujours accessibles. Leur densité et leur distribution sur la surface sont par ailleurs des points primordiaux à garantir. Plusieurs méthodes d'immobilisation peuvent être utilisées pour lier le biorécepteur au transducteur :

- l'adsorption physique ou chimique sur la surface
- le greffage covalent sur la surface
- l'inclusion ou le piégeage dans une membrane, matrice de surfactant ou polymère

Le choix d'une méthode d'immobilisation va dépendre de nombreux facteurs mais la plupart du temps le choix va être déterminé par le type de molécule à immobiliser, le matériau constitutif de la surface sensible mais aussi les conditions d'utilisation finale du capteur.

1.3.1 Adsorption physique ou chimique sur la surface

L'adsorption de biomolécules sur la surface sensible du biocapteur peut être soit physique, soit chimique. L'adsorption physique met en jeu les forces de Van Der Waals, des forces ioniques ou interactions hydrophobes, alors que la chimisorption correspond à un échange ou un transfert d'électrons pour créer une liaison chimique. Cette méthode d'immobilisation est possible sur la plupart des surfaces solides. L'avantage principal de ce type d'interaction est la simplicité de mise en

place d'un tel procédé et son faible coût. On le retrouve principalement sur les techniques de dosage immuno-enzymatique sur support solide (ELISA) mais aussi sur des techniques de détection comme la résonance des plasmons de surface (SPR) ou les microbalances à quartz (QCM) ce qui en fait la technique clinique la plus utilisée dans les milieux non exigeants. En effet, pour des conditions difficiles (température, acidité...etc..), ce type d'immobilisation n'est plus possible à cause de la réversibilité de la réaction due à la faiblesse des liaisons créées. Les nombreuses liaisons possibles entre la molécule d'intérêt et la surface ne permettent pas non plus de maîtriser la distribution ni l'orientation du tapis protéique [³⁹], ce qui entraîne des phénomènes d'agrégation et de multicouche masquant certains sites actifs. De plus, dans une grande partie des cas, les biomolécules sont en partie dénaturées pendant le procédé, ce qui entraîne une diminution de l'activité biospécifique [⁴⁰].

1.3.2 Greffage covalent sur la surface

Une méthode plus favorable à l'activité biospécifique est le greffage covalent sur la surface [⁴¹] qui est particulièrement bien adapté aux biorécepteurs d'affinité. Elle permet en effet de mieux maîtriser l'organisation et l'orientation d'une monocouche protéique à la surface du capteur grâce à la formation de liaisons spécifiques avec un ou plusieurs sites d'accroche de la protéine. De plus, l'établissement de liaisons covalentes assure une accroche suffisante entre les biorécepteurs et la surface pour des conditions physico-chimiques très variables [⁴²]. Ce mode de greffage est, dans la majeure partie des cas, associé à une fonctionnalisation chimique de la surface qui assure un contrôle de l'uniformité, de la distribution et de la densité des biorécepteurs fixés à la surface du transducteur.

Cette interface chimique permet de modifier rapidement et facilement la chimie de surface du substrat, en introduisant des groupements supplémentaires qui pourront être utilisés pour immobiliser les biorécepteurs, même si dans certains cas, la liaison directe biorécepteur/substrat n'est possible. De nombreux groupements fonctionnels portés par les biorécepteurs peuvent être utilisés, comme les groupements amines et carboxyles portés par la plupart des protéines, mais aussi certaines fonctions plus spécifiques comme les thiols et les imidazoles. Le large éventail de groupements réactifs permet d'adapter la méthode d'immobilisation au substrat et à la nature du biorécepteur afin de préserver au maximum l'activité biospécifique du récepteur.

La fonctionnalisation du substrat par une monocouche de molécules chimiques est rapide (<1jour), facile (immersion dans une solution pour la plupart) et spontanée. On appelle cette interface une monocouche auto-assemblée ou encore une SAM (Self Assembled Monolayer). La monocouche auto-assemblée lie les biorécepteurs au substrat. Les molécules constituant cette monocouche sont composées d'un groupement fonctionnel d'accroche, d'un bras espaceur et d'un groupement fonctionnel terminal permettant la fixation du biorécepteur. Les groupements fonctionnels d'accroche les plus communs sont les thiols (-SH) pour les surfaces métalliques [⁴³] et les alkoxysilane ($-Si(OR)_3$) pour les oxydes (TiO_2 , SiO_2 par exemple) ou le verre [⁴⁴]. Les bras espaceurs sont la plupart du temps des chaînes carbonées (alkyles) mais l'introduction plus récemment de chaînes polyéthylène-glycol (PEG) semblent réduire les interactions non-spécifiques grâce à leurs propriétés hydrophiles [⁴⁵]. Les groupements terminaux sont eux adaptés à la fonction requise. On retrouve par exemple les groupements amine, carboxyle, alkyle, thiol, hydroxyle...etc... Il est notamment possible

de combiner des molécules possédant des groupements fonctionnels terminaux et des bras espaceurs de longueurs différentes afin de conférer des propriétés supplémentaires à la surface.

Boireau et al. [46] utilisent par exemple deux molécules différentes, 11-mercapto-1-undecanol (MUDO) et 16-mercapto-1-hexadecanoic acid (MHDA). Ces molécules possèdent chacune un thiol permettant l'accroche (ici sur or), des chaînes alkyls de longueurs différentes (11 et 16 carbones) et des fonctions terminales respectives hydroxyle et carboxyle. Ces deux fonctions permettent à la fois de fixer les protéines (réaction groupement carboxyle activé avec groupement amine de la protéine) et de limiter les interactions non-spécifiques (groupement hydroxyle protège de l'adsorption non-spécifique sur le substrat).

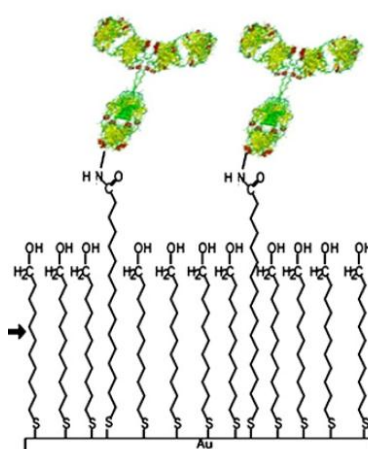


Figure 1.6 - Immobilisation d'anticorps sur substrat d'or fonctionnalisé MHDA / MUDO [46]

1.3.3 Inclusion ou piégeage

La méthode d'inclusion est une méthode simple et très utilisée. Elle consiste à immobiliser les molécules biologiques dans un gel insoluble. Ce gel peut être constitué d'une matrice organique ou inorganique. Les matériaux généralement utilisés sont des polymères. On retrouve notamment des dérivés polyvinyliques ou des polycarbonates, de la polyacrylamide et de l'acétate de cellulose. Les biorécepteurs à immobiliser sont mélangés en solution puis irradiés (thermiquement ou par des photons) pour former un film stable polymérisé à la surface du matériau. Les biorécepteurs se retrouvent donc piégés. La matrice assure à la fois la rétention de la molécule d'intérêt mais aussi l'accès aux sites actifs grâce à sa porosité. Cette porosité est cependant une source potentielle de baisse d'activité car elle peut induire un relargage des protéines immobilisées. Les avantages de cette méthode proviennent de la compatibilité avec les biomolécules, dont notamment le façonnage à température ambiante et la faible dénaturation des biorécepteurs. Ces films sont de plus très stables chimiquement, thermiquement et structuellement.

Une autre technique de piégeage consiste à immobiliser le biorécepteur dans plusieurs monocouches formées par la méthode de Langmuir-Blodgett. Cette méthode permet la production de films

monomoléculaires à la surface du substrat par transfert de molécules amphiphiles (une extrémité hydrophile et l'autre hydrophobe) résidant à l'interface air-eau. Par itération de cette méthode, plusieurs monocouches peuvent être assemblées. Les biorécepteurs sont alors inclus dans ces multicouches ordonnées.

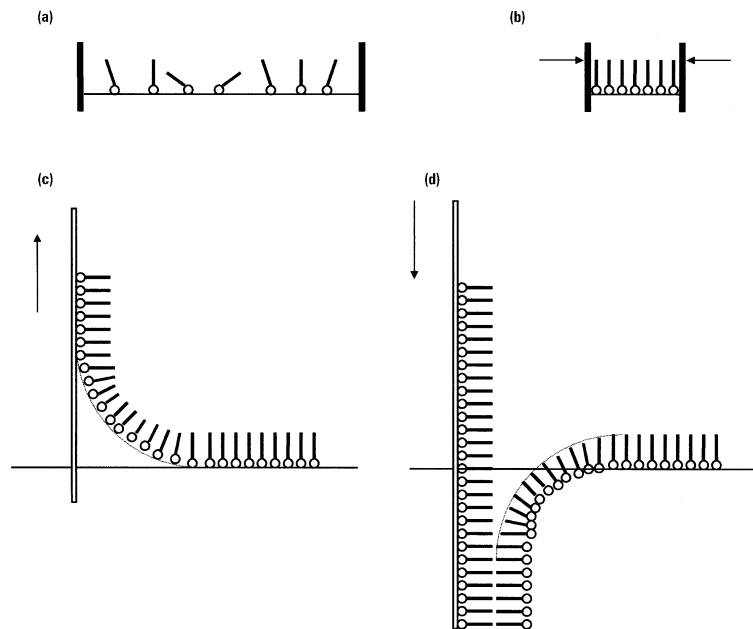


Figure 1.7 - Obtention de multicouches monomoléculaires de Langmuir-Blodgett : a) molécules amphiphiles résidant à l'interface air-eau , b) compression des molécules, c) formation du film monomoléculaire par retrait lent du substrat, d) réalisation de multicouches par réitération du procédé [47].

Comme pour la formation de monocouche auto-assemblée, les films de Langmuir Blodgett permettent un bon contrôle de la densité et de l'orientation de la monocouche de biorécepteurs, améliorant l'activité biologique [48]. Néanmoins les contraintes liées au protocole mis en œuvre pour le dépôt de biorécepteurs par cette technique empêchent une utilisation générique de ces films.

1.3.4 Choix d'une interface de biorecognition

Nous l'avons vu précédemment, le choix du biorécepteur et de la méthode de fixation sur le substrat va dépendre de l'application souhaitée. Les biorécepteurs seront, dans la plupart des cas, imposés par l'analyte à détecter (un antigène pouvant être détecté uniquement par son anticorps spécifique) tandis que la méthode d'immobilisation pourra être adaptée en fonction des conditions d'utilisation, de la sensibilité escomptée ou encore pour des raisons économiques.

Les biorécepteurs catalytiques sont adaptés à la détection d'éléments simples alors que les biorécepteurs d'affinité vont s'intéresser à des événements biologiques plus rares, complexes et spécifiques, principalement aux complexes anticorps / antigènes. Les récepteurs biomimétiques vont eux pouvoir jouer sur les deux tableaux, proposant à la fois des solutions de reconnaissance par affinité ou catalytique. Le prix et les possibilités de mise en œuvre de cette technique limitent

cependant encore le nombre d'applications mais laissent présager des seuils de détection très intéressants.

Ce seuil de détection va aussi fortement dépendre de la technique d'immobilisation utilisée. L'adsorption est une technique très utilisée, peu chère mais la faiblesse des liaisons créées avec le substrat, la faible activité biologique de la couche sensible et son agencement non maîtrisé vont restreindre considérablement les possibilités d'utilisation dans le cas de conditions environnementales sévères, d'événements biologiques rares et dans un milieu complexe. Le piégeage traditionnel de biorécepteurs par membrane poreuse améliore la stabilité de la couche sensible dans les milieux exigeants et réduit les interactions non-spécifiques avec le substrat mais le relargage et l'orientation mal maîtrisée des biorécepteurs montrent les limites de cette méthode. Le greffage covalent ou la méthode de Langmuir-Blodgett augmentent l'activité biospécifique et réduit l'adsorption non-spécifique grâce à une meilleure maîtrise de l'uniformité, de la densité et de l'orientation de la couche sensible. De plus, la diversité de ces interfaces confère une adaptabilité facile, aussi bien au niveau du substrat qu'au niveau de l'élément de biorecognition à fixer.

En plus des critères de sélection énumérés dans cette partie, le choix de la couche biologique sensible sera aussi conditionné par le matériau retenu pour réaliser l'élément de transduction. Les méthodes de transductions sont approfondies dans la section suivante.

1.4 Méthodes de transduction

Les méthodes de réalisation de la couche sensible évoquées précédemment vont rendre le biocapteur sélectif à une interaction biologique d'intérêt. Le signal physico-chimique généré lors de cet événement biologique est ensuite converti en signal physiquement mesurable par le transducteur (cf Figure 1.2). La mesure doit permettre à la fois d'avoir une information qualitative mais aussi quantitative de l'interaction biologique. Dans la plupart des cas, il est nécessaire de doser la quantité d'analyte présente, généralement faible. Il est donc important de définir la sensibilité du biocapteur, c'est-à-dire l'intensité du signal délivré pour un événement unique de reconnaissance biologique. L'intensité de ce signal prendra différentes dimensions physiques en fonction de la technique de détection utilisée. Cette sensibilité sera toujours associée à la limite de détection du capteur, c'est-à-dire la plus petite quantité d'analyte cible que le biocapteur sera capable de détecter. Cette limite de détection va dépendre de la sensibilité du transducteur mais aussi de sa sélectivité, c'est-à-dire du niveau de bruit de la mesure. On appellera bruit de mesure la réponse du transducteur à un événement autre que celui que nous souhaitons suivre. Outre le bruit engendré par une mauvaise sélectivité de la couche sensible (cf paragraphe précédent), il faut prendre en compte la sélectivité propre de transducteur, les mesures étant dans la quasi-totalité des cas perturbées par des éléments extérieurs tels que la température, la pression, la lumière, le bruit du milieu environnant...etc...

Les techniques de transduction sont très diverses et peuvent être classifiées suivant trois catégories : les méthodes de détection optique, les méthodes de détection électrochimique et les méthodes de détection de masse. Ces trois catégories répertoriées sont re-divisibles en un grand nombre de sous

classes grâce aux développements de nouveaux transducteurs et par combinaison de plusieurs techniques créant un nombre quasi infini de méthodes de transduction. Nous nous limiterons ici aux méthodes les plus usuelles.

Nous pouvons dès lors différencier les techniques de détection avec marquage de celles sans marquage. Les techniques avec marquage consistent à modifier l'analyte pour y ajouter un marqueur afin de détecter sa présence. Les marqueurs les plus utilisés sont des fluorophores qui permettent une détection optique avec une résolution très importante car ils permettent un seuil de détection proche de la molécule ou du virus unique [49]. Cependant, les modifications structurales par génie génétique de l'analyte pour ajouter cette étiquette peuvent affecter la reconnaissance avec les biorécepteurs et diminuent la spécificité du capteur [50], réduisant l'intérêt de cette technique. Notons cependant qu'il est possible de confirmer une analyse réalisée sans marquage par une seconde avec marquage.

1.4.1 Transduction optique

Les techniques de détection optiques sont, après les techniques ampérométriques et potentiométriques, les plus utilisées. Elles permettent de sonder rapidement, sensiblement et sans ambiguïté une surface ou un film de manière non destructive. Ces qualités ajoutées aux possibilités d'analyser plusieurs analytes en parallèle, de miniaturisation ainsi que les diverses propriétés de transduction utilisées telles que l'adsorption lumineuse, la fluorescence / phosphorescence, la bioluminescence, la réflexion, la diffusion Raman ou les variations d'indice réfractif montrent le large champ d'application de ces dispositifs.

La plupart des méthodes d'analyse optique utilisent des techniques de spectroscopie développées initialement pour la caractérisation physique de couches et ont été modifiées pour des applications biocapteur. Par exemple l'ellipsométrie, utilisée principalement pour la caractérisation d'épaisseur de couche et d'indice réfractif de films minces métalliques ou d'oxydes, a permis de suivre l'adsorption et la désorption de molécules ainsi que leurs interactions à l'interface solide / liquide [51,52]. Nous nous limiterons ici à l'étude des méthodes les plus courantes et développées pour les biocapteurs à affinité : la fluorescence, les guides d'onde et la résonance des plasmons de surface (SPR).

1.4.1.1 La fluorescence

La fluorescence est sans aucun doute la méthode de transduction optique la plus utilisée et de multiples dispositifs intègrent cette technique de transduction de diverses façons. Les protocoles nécessitent d'incorporer à la molécule à analyser une molécule fluorescente (fluorophore ou fluorochrome). Les molécules fluorescentes possèdent la propriété d'adsorber de l'énergie lumineuse (lumière d'excitation) et de la restituer rapidement (<1ns) sous forme de lumière fluorescente (lumière d'émission). La détection de cette lumière d'émission spécifique permet d'en déduire alors la présence de l'analyte d'intérêt et son intensité permet d'estimer la quantité de molécules présentes.

En utilisant divers fluorophores, se distinguant par leur longueur d'onde d'émission et d'excitation, on peut alors rechercher la présence de divers analytes d'une même préparation permettant la mise en parallèle des mesures sur un même substrat. Cette technique est notamment utilisée sur les puces à ADN. Les fluorophores sont excités par un laser scannant la surface et l'émission fluorescente est détectée par des photomultiplicateurs dont la sensibilité de détection est excellente. Ces mesures sur des appareils commerciaux actuels permettent une résolution latérale de $10\mu\text{m}$ et leur sensibilité permet de détecter jusqu'à 1 voir 0.1 molécule fluorescente par μm^2 , correspondant à une détection d'hybridation d'ADN à une concentration de 1pM [53].

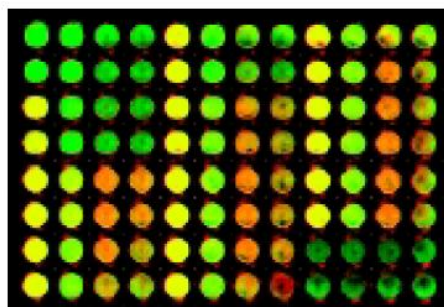


Figure 1.8 - exemple de résultat de fluorescence d'une puce à ADN [53]

Outre, comme nous l'avons énoncé précédemment, la possible réduction de l'interaction entre l'analyte et le biorécepteur dû à l'ajout de l'élément fluorescent, des phénomènes peuvent perturber l'émission de fluorescence et donc réduire la sensibilité du biocapteur. Citons parmi eux le « quenching » qui provient de l'absorption d'une partie de l'énergie lumineuse par d'autres molécules et le « photobleaching » qui annihile la fluorescence des sondes suite à l'exposition de ces dernières à une intensité lumineuse trop importante. Une variante à cette technique de caractérisation est le radiomarquage, qui utilise des atomes de substitution radioactifs à la place d'éléments fluorescents, qui sont détectés ensuite suivant le type de particule émise (β ou γ) et selon l'énergie de l'émission.

1.4.1.2 Les guides d'onde

L'utilisation de guides d'onde planaire ou par fibre optique pour des applications biocapteur est apparue au début des années 1980 et a vu de nombreux développements ces dernières années, notamment commerciaux (Corning's EPIC® Ô, SRU Biosystems' BIND™, Zeptosense®, etc). Un guide d'onde diélectrique est composé d'un film d'indice de réfraction très élevé n_f , appelé structure guidante, encadré de deux milieux d'indice plus faible. Lorsqu'il est utilisé en tant que biocapteur, les deux milieux encadrant la structure guidante sont le substrat d'indice n_s , sur lequel est déposé le film mince d'indice élevé, et le milieu couvrant le guide d'indice n_c , qui est la surface active du composant où se produisent les interactions biologiques (Figure 1.9).

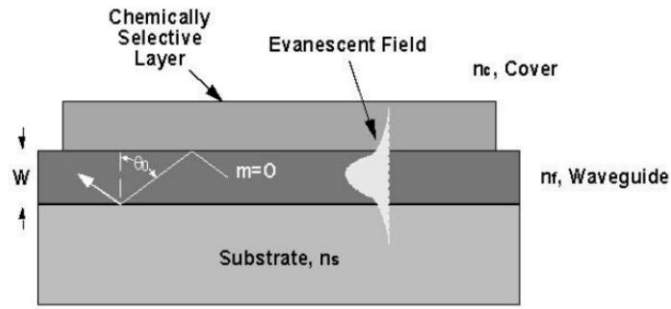


Figure 1.9 - Vue en coupe d'un guide d'onde [54]

Lorsqu'un faisceau est injecté dans ce guide, une onde évanescente se propage aux deux interfaces de la structure guidante. La longueur de pénétration ΔZ_c de l'onde évanescente dans le milieu couvrant est alors définie par la relation [55]

$$\Delta Z_c = \left(\frac{\lambda}{2\pi} \right) * [N^2 - n_c^2]^{-\frac{1}{2}}$$

Avec λ , la longueur d'onde et N l'indice effectif du mode guidé.

Une perturbation au niveau de l'interface n_c/n_f se traduit par un changement ΔN de l'indice effectif du guide. Cette variation d'indice peut être induite par la formation d'une couche superficielle de molécules adsorbées ou liées, ou par le changement Δn_c d'indice de réfraction du milieu couvrant. La sensibilité de ce transducteur va être inversement proportionnelle à l'épaisseur effective du guide d'onde tout en restant supérieure à l'épaisseur de coupure pour qu'un mode puisse être guidé [56]. En effet, plus l'épaisseur de la couche guidante sera importante, plus la profondeur de pénétration ΔZ_c de l'onde sera réduite, le champ évanescent sera alors moins perturbé d'où la diminution de sensibilité.

Ce type de transduction permet de mesurer à la fois des réactions enzymatiques ou d'affinité, les biorécepteurs étant dans ce dernier cas fixés via des réactions chimiques par l'introduction de molécules possédant des groupements silanes, compatibles avec les matériaux utilisés comme par exemple le nitrure de silicium (Si_3N_4) ou encore l'oxyde de tantale (Ta_2O_5). Les grandeurs mesurées peuvent être de plusieurs types : mesures de fluorescence, d'interférométrie, d'indice réfractif, de photométrie [54].

1.4.1.3 La résonance des plasmons de surface

Depuis la mise en évidence de l'utilisation de la résonance des plasmons de surface (SPR) par Liedberg et al. [7] pour des applications de détection de gaz et de bioparticules, de nombreux dispositifs ont pu voir le jour, les plus connus étant ceux développés par la firme Biacore, aujourd'hui General Electrics BIAcore®. Cette technique de détection permet la reconnaissance quantitative

d'espèces biologiques en temps-réel, sans marquage, en parallèle (grâce à plusieurs zones d'interactions) et hautement sensible ($\sim 1 \text{ pg/mm}^2$). La flexibilité de cette technique est grande car elle peut s'adapter à de nombreux analytes à détecter. De nombreuses applications sont envisageables, citons par exemple l'analyse alimentaire, l'immunogénécité, la recherche de drogues, etc...

Le principe de cette mesure est d'envoyer grâce à un rayon incident une onde polarisée TM (polarisé dans le plan d'incidence) sur une interface verre-métal (en général or ou argent). Pour un angle bien déterminé, caractéristique de la couche métallique, cette onde qui était totalement réfléchie est absorbée en partie par l'excitation des plasmons de surface. Le plasmon de surface est une onde à décroissance exponentielle se propageant des deux côtés de l'interface séparant un métal d'un milieu diélectrique sans perte (ici le verre et le milieu biologique), parallèlement à laquelle elle se propage. L'onde plasmon va jouer le rôle de sonde car son amplitude et sa phase seront modifiées suite à la fixation de molécules sur la surface. L'analyse de l'amplitude (Figure 1.10b) ou de la phase du signal réfléchi (le signal réfléchi étant la résultante de l'onde émise modifiée par l'adsorption des plasmons de surface) va permettre de remonter à la quantité de biomolécules en interaction à la surface du matériau [57].

Plusieurs configurations de capteurs SPR sont possibles, notamment celle utilisée dans la plupart des biocapteurs commerciaux, la configuration de Kretschmann (Figure 1.10a), utilisant un prisme de couplage. Dans des études plus récentes, nous retrouvons d'autres configurations telles que celles couplées par des guides d'onde (fibre optique principalement) ou des grilles de diffraction [58].

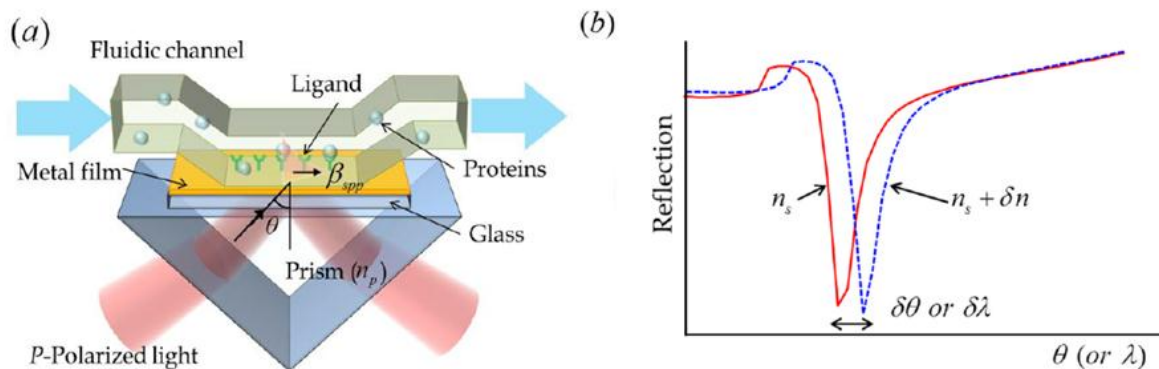


Figure 1.10 – Configuration de Kretschmann des biocapteurs SPR commerciaux (a) et évolution du coefficient de réflexion du au signal SPR en fonction d'une modulation angulaire ou de longueur d'onde (b).

Nous l'avons dit, l'augmentation de l'accroche sur la surface, résultant par exemple de l'interaction d'antigènes sur leurs immunoglobulines spécifiques, se traduit par une assez forte modification de l'indice optique à l'interface métal/milieu biologique. Cette modification d'indice optique s'équilibre par une variation de l'angle de l'onde incidente ou par modification de la longueur d'onde. Plusieurs techniques peuvent là aussi être utilisées, soit par suivi 1) de l'angle d'onde (utilisé par exemple sur

le système BIAcore®) ou 2) de la longueur d'onde (cf Figure 1.10b), soit 3) en fixant un angle ou une longueur d'onde de travail et en observant la variation de réflectivité. Cette dernière configuration est utilisée sur les instruments SPRI-plex développés par Horiba Jobin Yvon®. Elle permet la réalisation d'imagerie sur puce en suivant en parallèle un grand nombre d'interactions [59]. Que ce soit pour l'observation des variations de l'angle d'incidence (exprimé en unité de réponse R.U.) ou les variations de réflectivité (% ΔR), la réponse se présente sous forme de « sensorgram » présentant la cinétique des interactions ayant lieu à la surface de la puce en temps réel. La figure à gauche ci-dessous est un « sensorgram » qui reprend différentes interactions lors d'une analyse SPR sur instrument Biacore® [60] et celle de droite un exemple de « sensorgram » (b) et d'image de spots (a) obtenus par SPRI [61].

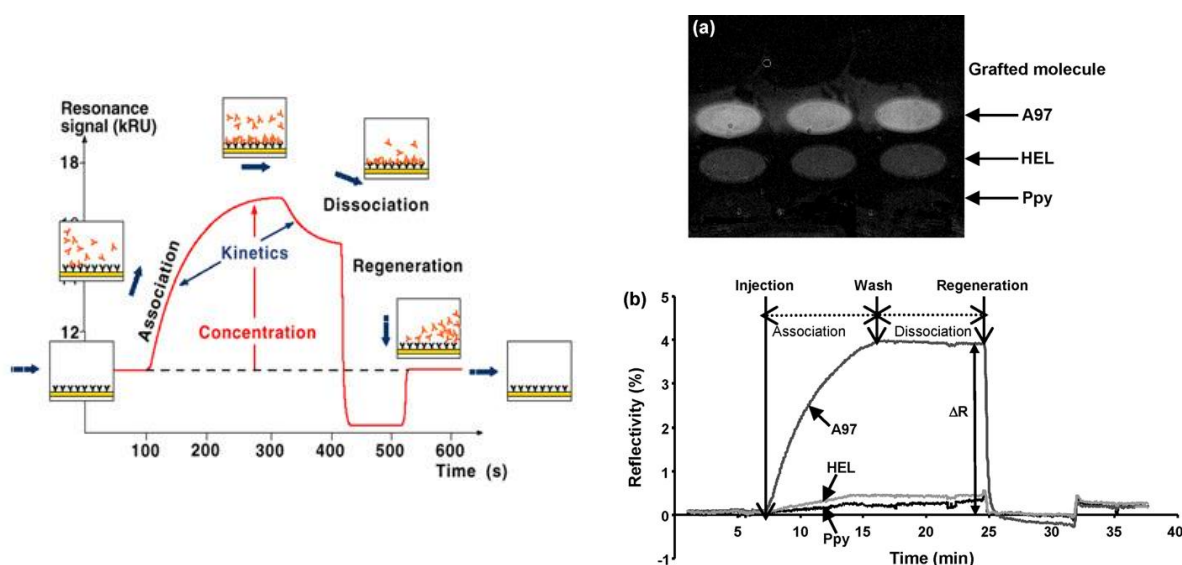


Figure 1.11 - "Sensorgram" de différentes interactions se produisant à la surface de la puce d'or lors d'une analyse SPR [60] et exemple d'image (a) et de « sensorgram » (b) pour une analyse SPRI [61].

Les limites de détection théorique de ces deux appareils sont respectivement de 1 R.U. (soit 0.1 millidegré) et de 0.05% ΔR correspondant à un taux de couverture de 1 pg/mm² et 10 pg/mm². Ces performances ont permis à ces biocapteurs de devenir les appareils de référence utilisés par de nombreuses équipes de recherche pour valider les protocoles de bio-fonctionnalisation / détection. Par exemple, la détection de la capture de la protéine LAG3, un marqueur spécifique de la tuberculose et du cancer du sein par des anticorps A9H12 immobilisés sur puce d'or fonctionnalisée, a pu être montrée avec une sensibilité de quelques femtomoles (quelques pg) [46]. Cependant, cette technique utilisant principalement l'or comme matériau de référence, le choix des techniques d'immobilisation des biorécepteurs reste limité. L'intégration des composants optiques nécessaires à l'analyse, ne permet pas non plus de réaliser un instrument complètement intégré, portable et automatisé. Enfin, le coût de ces instruments ne permet pas d'envisager une commercialisation grand public de ces dispositifs, ce qui en limite son utilisation et son développement.

1.4.2 Transduction électrochimique

Utilisant des procédés beaucoup moins complexes et coûteux que les autres modes de transduction, ces techniques sont à l'origine des premiers biocapteurs et connaissent encore de nombreux

développements afin d'être adaptées sur une multitude de dispositifs. Leur principe repose sur la mesure électrochimique d'un signal direct ou indirect issu de la reconnaissance biologique, ce signal étant lié généralement à l'activité des biorécepteurs catalytiques de type enzymatiques. Ces techniques sont répertoriées en trois classes suivant la grandeur électrique qu'elles mesurent ; on retrouve les méthodes ampérométriques, les méthodes potentiométriques et les méthodes conductimétriques qui mesurent respectivement le courant, la tension et l'impédance du signal d'intérêt. Nous donnerons un descriptif de ces techniques et quelques exemples dans cette section.

1.4.2.1 Les transducteurs ampérométriques

La transduction ampérométrique est basée sur la mesure d'un courant entre une électrode de mesure et une électrode de référence, induit via une réaction d'oxydoréduction. Ce courant est relié à la concentration dans la solution des espèces électro-actives ou à leur vitesse de production, de manière proportionnelle. Les propriétés catalytiques d'enzymes partenaires sont généralement employées afin de permettre la génération suffisante d'électrons nécessaires à la détection. Cette mesure possède donc le désavantage d'être indirecte mais est caractérisée par une grande sensibilité du fait du seuil de détection du courant induit très bas, pouvant aller jusqu'à la centaine de nanoampères. Vianello et al. [62] affichent par exemple une sensibilité de 100nA/μM pour la détection de polyphénols grâce aux laccases utilisées comme enzymes pour leur biocapteur ampérométrique. Il faut de plus préciser que cette méthode nécessite l'apport de nouveaux éléments actifs, des limitations dues au transport d'espèces peuvent donc apparaître. Cette méthode reste cependant la plus utilisée dans les dispositifs commerciaux, l'exemple le plus connu étant la détection de glucose sanguin [5].

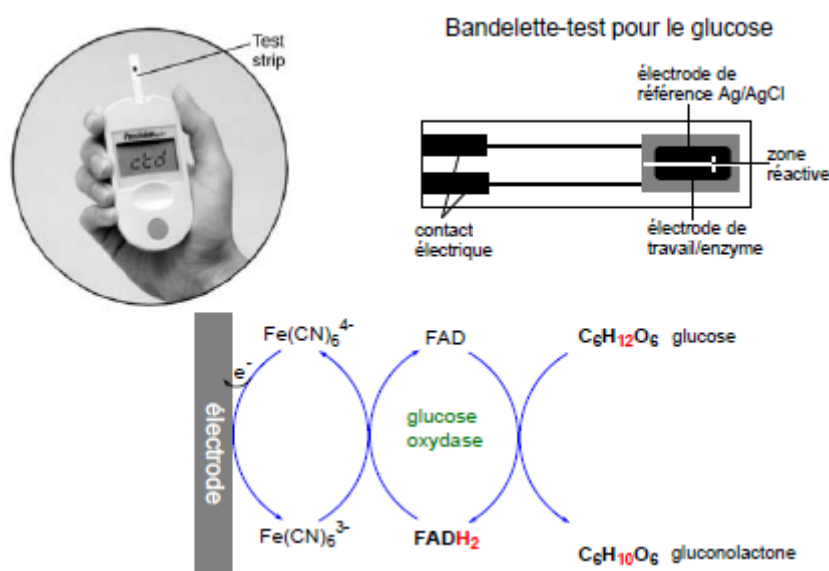


Figure 1.12 - Exemple de biocapteur ampérométrique, le glucomètre [63]

1.4.2.2 Les transducteurs potentiométriques

Comme les transducteurs ampérométriques, les transducteurs potentiométriques sont développés à partir de la connaissance avancée des phénomènes électrochimiques mis en jeu. La transduction

potentiométrique traduit les variations de potentiels au niveau des électrodes induites par des ions, des réactions chimiques ou plus récemment par la charge électrique de faibles quantités de biomolécules. La détermination des potentiels de l'électrode permet de connaître directement la concentration du corps à doser. A la différence de la mesure ampérométrique, ce signal de sortie est proportionnel au logarithme de la concentration. La mesure est différentielle et réalisée entre deux électrodes, une de référence et une de mesure. L'électrode de mesure est recouverte d'un ligand qui, en réagissant avec l'analyte, entraîne une variation de potentiel dont on déduira la quantité d'analyte ayant réagi. Cette électrode peut prendre la forme d'une grille dans le cas d'utilisation de transistor à effet de champ (FET, Field Effect Transistor). Ce type de capteur a été initialement utilisé comme capteur de pH appelé ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor), la grille étant sensible aux ions H^+ . Par extrapolation, ce principe a été repris pour les biocapteurs avec l'intégration de couches catalytiques ou de complexes sur la grille. Nous retrouvons ces capteurs sous les dénominations ENFET (EN pour enzyme) ou IMFET (IM pour immunologique). Nous nous intéresserons surtout à cette dernière catégorie de capteurs potentiométriques l'IMFET, les autres techniques souffrant d'une faible sensibilité face aux capteurs ampérométriques et des effets de fixation ou de signaux non-spécifiques dûs aux autres ions présents en solution.

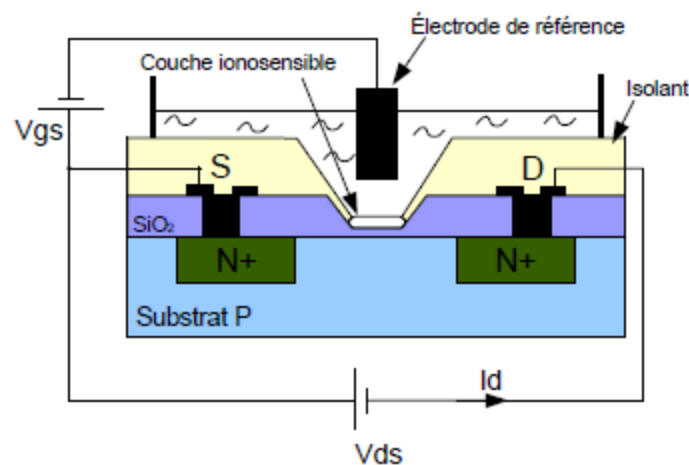


Figure 1.13 - Capteur de type ISFET ^[64]

Les biocapteurs utilisant les enzymes comme biorécepteurs sont les plus répandus mais nous pouvons aussi utiliser des biorécepteurs à affinité tel que l'ADN, les complexes anticorps/antigènes, la fixation de cellules ou bactéries ^[65]. A titre d'exemples, Zayats et al. ont pu détecter la présence d'aptamère adénosine mono-phosphate (AMP) à une concentration de $5.10^{-5}M$ ^[66], Milgrew et al. ^[67] utilisent une matrice d'ISFET pour imager l'activité cellulaire avec une sensibilité de 46mV/pH. L'utilisation d'enzymes permet d'accroître la sensibilité de détection. Ainsi Ercole et al. rapportent la détection d'Escherichia coli grâce à des anticorps spécifiques marqués par l'uréase avec une limite de détection de 100 UFC/ml en 1.5 heure ^[68].

1.4.2.3 Les transducteurs conductimétriques

Leur technique de détection est basée sur la mesure de variations d'impédance électrique entre deux électrodes. Contrairement aux méthodes précédentes, cette technique ne nécessite pas d'électrode de référence facilitant ainsi grandement l'intégration de cette technique et son utilisation. L'impédance mesurée entre les deux électrodes provient de l'interface ou de la région comprise entre les deux électrodes. La mesure des deux types d'impédances peut être un avantage ou un inconvénient car si les changements doivent être opérés à l'interface, il ne faut pas que la composition du milieu varie ce qui entraînerait une perturbation des mesures. La sélectivité est donc un point important à contrôler pour ce type de détection.

La transduction conductimétrique, comme celle ampérométrique, est particulièrement adaptée à l'utilisation de membranes contenant les biorécepteurs. Le couplage de cette technique avec les polymères à empreinte moléculaire a montré des applications pertinentes. Un capteur conductimétrique a pu être réalisé avec ce type de couche sensible permettant de détecter l'altrazine avec un seuil de détection de 5nM tout en conservant une bonne sélectivité par rapport aux herbicides possédant une structure proche [69]. Cette sensibilité a pu être obtenue grâce à l'utilisation de cette interface très sélective, qui a suscité les plus gros développements. Cet exemple montre bien que malgré la simplicité de détection, la sélectivité intrinsèque de cette transduction est un facteur limitant.

1.4.3 Transduction par variation de masse

Il est facile de s'imaginer qu'un des paramètres variant fortement lors de la capture d'un analyte par un biorécepteur est l'augmentation massique de la membrane active qu'induit la formation du complexe ligand-analyte. De cette constatation est née l'idée qu'une mesure suffisamment précise de la variation massique de la membrane active permettrait de remonter à l'information quantitative des interactions se produisant sur celle-ci.

Dans ce sens, de nombreux développements sont apparus ces dernières années grâce au progrès des microtechniques visant à réduire la taille des dispositifs. Nous le verrons plus en détail dans le paragraphe suivant (§ 1.5) mais nous pouvons dès lors annoncer que le rapport surface/volume de ces dispositifs augmentant, les phénomènes situés en surface ont tendance à devenir prépondérants, induisant de facto une augmentation de la sensibilité des dispositifs. La mesure de variation massique peut être réalisée grâce à une mesure de déflection (statique) ou par l'utilisation d'ondes acoustiques (dynamique). Quelque soit la méthode utilisée, statique ou dynamique, les géométries de l'élément sensible les plus fréquemment rencontrées sont des poutres (ou leviers) ou des membranes.

1.4.3.1 Mesures statiques

Cette méthode utilise la déformation de l'élément sensible comme mesurande afin de remonter à la quantité d'analyte ayant été capturé à la surface, ceci grâce à la masse additionnelle apportée par la formation de complexes biorécepteurs/analytes. Afin d'optimiser la sensibilité de ce type de dispositif, il est nécessaire d'avoir une grande déformation pour une faible variation de masse, ce qui

induit que la section de cet élément soit la plus faible possible. Ceci explique pourquoi nous retrouvons principalement des structures de type levier pour cette méthode de détection.

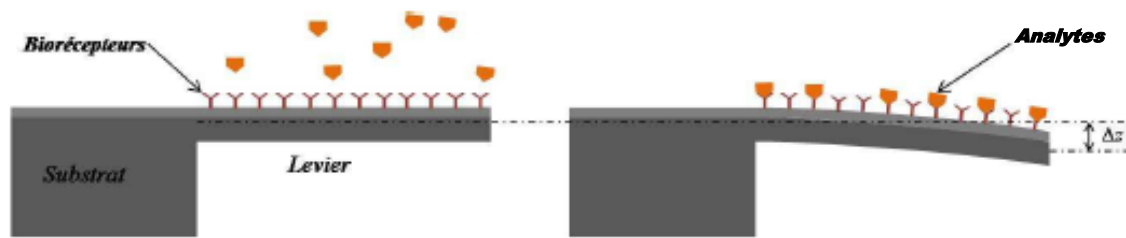


Figure 1.14 - Déflexion d'un levier induite par le changement de masse dû à la formation de complexes biorécepteurs/analytes [11]

Pour une poutre encastree libre, la déflexion (Δz) est liée à l'effort surfacique additionnel sur la face supérieure (w), aux propriétés élastiques du matériau utilisé (E : module de Young) et à la géométrie du levier (b , h et L : largeur, épaisseur et longueur) par la formule suivante :

$$\Delta z = \frac{wL^4}{8EI} \text{ avec } I = \frac{bh^3}{12}$$

Si on s'intéresse d'une part au moment quadratique I , on voit que la rigidité de la structure va augmenter proportionnellement à la largeur et par rapport au cube de l'épaisseur. Pour réduire cette rigidité et de ce fait augmenter la déflexion, il faut donc minimiser l'épaisseur de la structure. D'autre part, la déflexion variant comme la puissance 4 de la longueur, il faudra chercher à augmenter cette dimension. En cumulant ces deux constatations, nous obtiendrons des leviers d'autant plus sensibles que la longueur est importante, l'épaisseur réduite et la largeur importante. Cependant, ces conditions seront limitées par la résistance de la structure qui dépendra fortement elle aussi de l'épaisseur.

La sensibilité d'une telle structure va aussi dépendre de la dualité de chargement entre les deux faces du cantilever et donc nécessitera une fonctionnalisation différenciée sur chacune des deux faces. Yue et al. [70] greffent des anticorps biotinylés via une liaison biotine/streptavidine sur la face supérieure d'un levier de verre recouvert d'or (épaisseur 500 nm, largeur 40 μm et longueur 200 μm) et utilisent deux types de passivation pour la face opposée, une adsorption d'albumine sérique de bovin (BSA) et par greffage covalent de PEG-silanisés. Du fait de la bonne couverture et de l'efficacité « anti non-spécifiques » de la couche de PEG, la détection d'antigènes sériques de la prostate (PSA) par les anticorps spécifiques sur la face supérieure permet d'atteindre une limite de détection de 1 ng.mL^{-1} . Notons ici que la sélectivité des chimies de fonctionnalisation des deux faces du levier (PEG thiolés et silanisés) est possible par l'utilisation de deux matériaux différents, l'or et le verre, l'or servant aussi à la réflexion du faisceau laser permettant la mesure de la déflexion.



Figure 1.15 - Schéma de principe du système utilisé par Yue et al. [70] (A) et descriptif de la dualité de fonctionnalisation utilisée (B)

La technique de mesure optique décrite précédemment est la technique la plus utilisée. Un faisceau émis par une source laser est réfléchi à la surface du levier recouvert d'un matériau spécifique et vient finir sa course sur un photo-détecteur de position. Ainsi, la déformation du levier va dévier le faisceau lumineux qui frappera alors une autre position du photo-détecteur qui sera alors analysée. De cette mesure, on en déduira la flèche du levier et donc l'information de masse additionnelle que nous souhaitons obtenir. Nous retrouvons cette même méthode de détection dans les instrumentations de microscopie à force atomique (AFM). L'avantage de cette technique est l'utilisation possible de plusieurs leviers afin d'effectuer des mesures en parallèle mais les difficultés de focalisation du faisceau pour le suivi d'interaction temps réel en milieu liquide est une limitation importante et nécessite l'ajout d'éléments d'alignement aux systèmes optiques externes déjà présents. Cette condition ne permet pas d'envisager un usage portable, robuste et économique pour ce type d'instrumentation.

Des méthodes de mesure électrique ou magnétique permettent d'envisager des solutions embarquées de cette méthode de transduction. Les méthodes capacitives ou magnétiques permettent par exemple de détecter les variations de hauteur du levier par effet respectivement capacitif ou magnétique (effet hall) qui se forme entre un substrat fixe et le levier. Les propriétés intrinsèques des matériaux telles que la piézoélectricité ou la piézorésistivité offrent d'autres solutions faciles à mettre en œuvre. Elles identifient la position du levier respectivement par mesure des charges électriques de polarisation d'une couche piézoélectrique déposée sur la face supérieure du levier ou grâce aux variations de résistivité d'une jauge piézorésistive. Cette dernière solution est très répandue car elle réduit fortement les effets des grandeurs d'influence lorsque les jauges sont montées en pont de Wheatstone permettant des mesures différentielles. Nuryadi [71] décrit le comportement théorique de ce dispositif et avance une détection de quelques femtogrammes pour une variation de l'ordre du $\mu\Omega$ et une tension en sortie du pont de wheatstone de l'ordre du μV . De plus, l'intégration d'un circuit amplificateur directement sur le substrat facilite cette mesure et l'utilisation de 4 microleviers à la place de résistances externes permet de réduire l'offset de tension en sortie du montage. Le levier fabriqué à partir de polymère, (résine SU-8 principalement) a permis d'augmenter considérablement la sensibilité de cette technique d'un facteur 10 [72] comparativement aux leviers fabriqués en silicium.

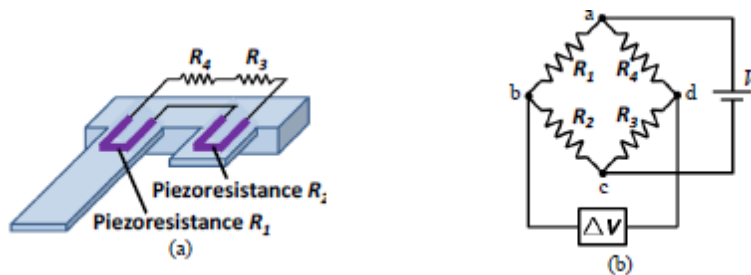


Figure 1.16 - Montage en pont de Wheatstone de microleviers avec deux résistances externes [71]

Malgré les sensibilités et les diverses solutions d'intégration promises par cette méthode de transduction, certaines limitations inhérentes au principe de transduction persistent. La déformation étant liée à l'état de contrainte à la surface du levier, il est difficile de calibrer ce type de système en vue d'obtenir une information quantitative. De plus, l'homogénéité du chargement n'est pas vérifiée pour des éléments biologiques de gros volume (cellule) ou pour l'adsorption de très petites quantités de molécules, limitant les domaines d'application de ces capteurs à des applications de très haute sensibilité type détection de molécule unique. L'utilisation d'un mode de détection dynamique permet de contourner ces contraintes, expliquant le fort engouement de la communauté scientifique pour le développement de ce type de dispositifs.

1.4.3.2 Mesures dynamiques

Les méthodes de détection dynamique se basent sur la génération et la détection d'ondes acoustiques. Ces ondes peuvent être :

- Longitudinales ou « de compressions » : elles oscillent parallèlement à la direction de propagation (mouvement de compression / extension)
- Transversales « ou de cisaillement » : elles oscillent perpendiculairement à la direction de propagation (cisaillement) et sont polarisées soit verticalement ou horizontalement.

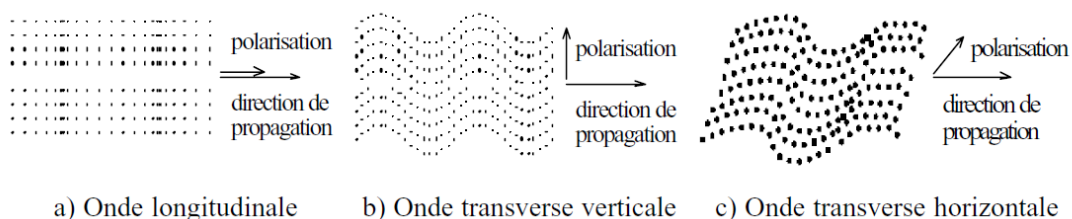


Figure 1.17 - Représentation schématique des déplacements de particules pour différentes ondes élastiques [73]

Une onde acoustique est un déplacement mécanique qui se propage grâce à l'élasticité d'un milieu physique qui peut être de différentes natures : solide, liquide ou gazeux. Les propriétés physiques de cet environnement agissent directement sur les conditions de propagation de l'onde et en modifient ses propriétés, que ce soit en terme de vitesse, de phase ou d'amplitude. Ainsi, des modifications de l'interface milieu biologique / solide induites par une réaction biologique vont modifier les conditions

de propagation de l'onde et perturber les caractéristiques de celle-ci. La mesure de ces perturbations via l'analyse de spectres d'amplitudes ou de phase en fréquence permet de quantifier les informations souhaitées sur la reconnaissance biologique, en général une information sur les variations de masse.

La génération et la détection d'ondes acoustiques sont généralement établies grâce à l'utilisation de matériaux piézoélectriques comme par exemple le quartz, le zirconate titanate de plomb (PZT) ou encore le nitrure d'aluminium (AlN). En utilisant la réciprocité de cette propriété, nous pouvons à la fois générer l'onde par « effet piézoélectrique inverse », i.e. obtenir une déformation du matériau par application d'un champ électrique, et détecter l'onde émise par « effet piézoélectrique direct », i.e. visualiser les déformations du matériau par mesure des charges électriques de polarisation. En d'autres termes, l'onde acoustique sera générée par déformation du matériau en appliquant un champ électrique variable sur celui-ci et détectée en observant les variations de charges électriques générées par la déformation du matériau.

Les dispositifs utilisent des ondes excitées à la fréquence de résonance du dispositif, c'est pourquoi nous les retrouvons dans de nombreux ouvrages sous le nom de biocapteurs résonants. De cette façon, grâce à l'analyse du spectre en fréquence, nous pouvons suivre les perturbations de l'onde acoustique dues à une modification de l'interface milieu biologique / matériau, lieu de la réaction biologique. Ainsi, une modification de la vitesse de l'onde provoquera un shift de la fréquence de résonance et l'amortissement de l'onde acoustique se traduira par une diminution de l'amplitude de l'onde excitée à sa fréquence de résonance. Par cette mesure très sélective, nous pourrions détecter précisément les interactions biologiques ayant lieu sur la surface d'intérêt.

1.4.3.2.1 Types d'onde acoustique

La propagation de cette onde peut se faire soit au travers du matériau, on dit alors que l'onde est une onde de volume, soit en surface du matériau où elle est confinée, l'onde est alors une onde de surface. Il convient alors de différencier ces capteurs en deux classes, les capteurs à ondes acoustiques de volume et les capteurs à onde de surface que l'on retrouve sous les acronymes anglais capteurs BAW (Bulk Acoustic Wave) ou SAW (Surface Acoustic Wave). Un grand nombre d'interactions biologiques ayant lieu en milieu liquide, cette contrainte va avoir une grande importance dans la sélection du mode de propagation utilisé pour la détection. De manière générale, les ondes ayant une propagation normale à la surface ne sont pas adaptées à la détection en milieu liquide. Par exemple, les capteurs utilisant des ondes de Rayleigh (appelés communément capteurs SAW) sont connus pour leur très grande sensibilité pour des applications en milieu gazeux [74] mais leur forte atténuation en amplitude en présence de fluide rend leur utilisation très limitée. Les ondes utilisées sont donc des ondes de cisaillement transverse, que se soit pour des ondes de volume à mode de cisaillement d'épaisseur pour les résonateurs TSM (Thickness Shear Mode), à mode de plaques SH-APM (Shear Acoustic Plate Modes) ou des ondes de surface (SH-SAW, Shear Horizontal Surface Acoustic Wave) guidées ou non avec respectivement les ondes de Love et de Bleustein-Gulyaev. Quelques exceptions, comme l'utilisation d'ondes de Lamb (deux ondes de Rayleigh sur chacune des faces) pour la détermination de masse volumique et de viscosité ont montré un potentiel intéressant.

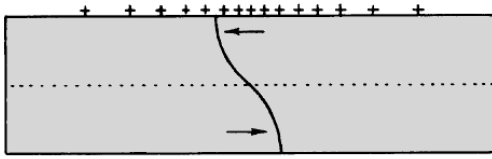
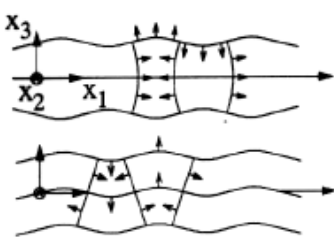
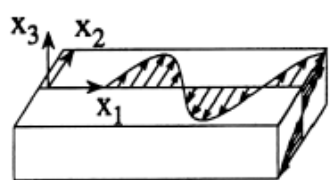
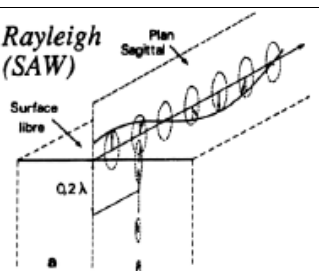
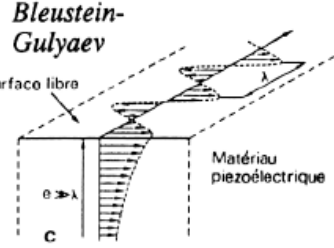
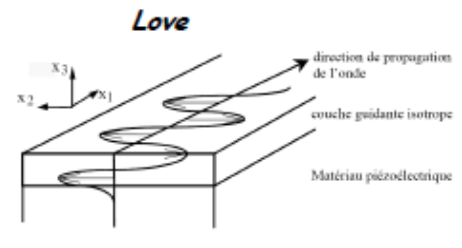
| Type d'onde | Fréquence (MHZ) | Déformation |
|--------------|--|---|
| Volume | 5-10 | Déformation transverse |
| | | <p>TSM</p>  |
| Plaque mince | 5-10 | Déformation transverse et normale |
| | | <p>Lamb</p>  |
| | 120-150 | Déformation transverse |
| | | <p>SH-APM (Shear Horizontal Acoustic Plate Modes)</p>  |
| Surface | 100-200 | Déformation transverse et normale |
| | | <p>Rayleigh (SAW)</p>  |
| | <p>Bleustein-Gulyaev 50-100</p> <p>Love 80-120</p> | <p>Déformation transverse</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Bleustein-Gulyaev</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>Love</p>  </div> </div> |

Figure 1.18 - Fréquence caractéristique et déplacement des particules pour différentes ondes acoustiques utilisées [73]

La sensibilité du dispositif va fortement varier en fonction du type d'onde utilisé. D'un point de vue énergétique, nous avons vu que l'effet de masse consiste en une perturbation des propriétés de l'onde pour un ajout de masse en surface, on conçoit donc aisément que plus l'énergie de l'onde est proche de la surface dite sensible, plus la perturbation est importante. La sensibilité sera donc très

dépendante du volume parcouru par l'onde. Dans le cas des ondes de volume (TSM) ou des modes de plaques minces (SH-APM), les ondes sont réparties dans l'ensemble du volume de la structure. L'accroissement de la sensibilité de ces dispositifs passe donc par la diminution de l'épaisseur de la structure, limitée par des contraintes technologiques de fabrication et des problématiques de résistance de structure. Dans le cas d'ondes de surface, l'onde est confinée en surface du matériau ce qui permet d'avoir à la fois une grande sensibilité due à la faible pénétration de l'onde tout en conservant une structure très résistante, l'épaisseur du substrat étant sans influence sur la détection. Pour ces mêmes raisons, les ondes de Bleustein-Gulyaev sont peu utilisées car elles pénètrent assez profondément le substrat (de l'ordre de 100λ).

1.4.3.2.2 Architectures

Les capteurs à onde de volume TSM les plus répandus sont les microbalances à quartz (QCM, quartz crystal microbalance). Ce sont les premiers capteurs à ondes acoustiques développés avec les travaux de Sauerbrey [75] en 1959 puis repris par King en 1964 [76]. Encore aujourd'hui, ils sont la base de systèmes commerciaux comme le capteur QCM-D de la firme Q-sense [77] ou le système Affinix d'INITIUM [78] et sont utilisés comme système de référence pour la détection sans marquage de biomolécules au même titre que les capteurs SPR.

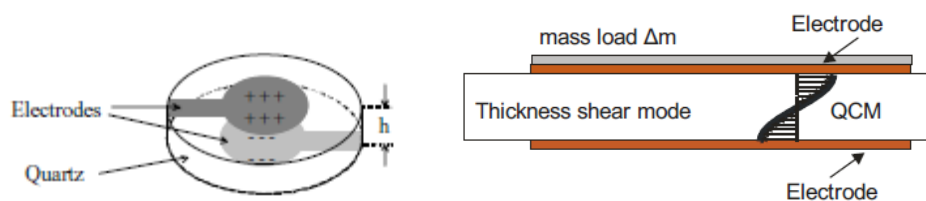


Figure 1.19 - Schéma de principe d'une microbalance à quartz [79]

Les capteurs TSM sont généralement constitués d'un substrat piézoélectrique circulaire, principalement du quartz, muni d'électrodes sur chacune de ces faces. L'application d'un signal électrique sinusoïdal aux bornes de ces électrodes permet de générer une onde acoustique transverse. La résonance apparaît à une fréquence dépendant de la nature, de la coupe cristallographique et des dimensions du matériau piézoélectrique, des paramètres associés aux éventuels matériaux adjacents (couche sensible...) ainsi que des paramètres extérieurs tels que la température. Les équations de Sauerbrey permettent de déduire des variations de fréquence de résonance à l'ajout de masse et/ou la modification des propriétés du film déposé :

$$\Delta f = \frac{-2f_0^2 \Delta m}{A \sqrt{\mu_q \rho_q}} = -C \Delta m \text{ et } \Delta f = \sqrt{f_0^3 \frac{\eta_L \rho_L}{\pi \rho_q \mu_q}}$$

Avec :

f_0 : fréquence de résonance

Δf : variation de fréquence due à l'effet de masse

A : surface active piézoélectrique

μ_q : module de rigidité élastique transverse du matériau piézoélectrique

ρ_q : masse volumique du matériau piézoélectrique

C : Constante de sensibilité de masse

Δm : variation de masse

η_L : viscosité du liquide

ρ_L : masse volumique du liquide

Les QCMs les plus couramment utilisés fonctionnent entre 5 et 15 MHz et utilisent des quartz de 10 à 16 mm de diamètre. Pour une fréquence de résonance de 10MHz et une surface d'électrode de 0,22 cm², la sensibilité à l'effet de masse en phase gazeuse est d'environ 1 Hz par nanogramme [80]. De même, le système QCM-D de Q-sens fournit des informations précieuses sur la couche (conformation, rugosité, distribution, quantité d'eau piégée...) en observant la décroissance exponentielle de l'amplitude des vibrations après avoir coupé l'alimentation électrique du circuit d'excitation. Ainsi, la décroissance de l'amplitude sera d'autant plus lente que l'interface sera solidaire du substrat et mince [77].

Les systèmes à onde de plaque ou de surface utilisent des lignes à retard à peignes interdigités (IDT, interdigital transducer) pour la génération et la détection d'ondes acoustiques. Le principe de cette ligne à retard est de générer une onde élastique et de regarder à une distance (L_{CC} , dans le schéma ci-dessous) les caractéristiques de l'onde après propagation. Par application d'un courant alternatif et du fait de l'alternance de signe des électrodes se faisant face, les électrodes émettrices vont créer des successions de contractions / dilatations générant une onde. A la distance L_{CC} , les électrodes réceptrices détecteront l'onde transformée. La longueur de cette onde sera définie par la distance de répétition entre deux électrodes de même signe, λ .

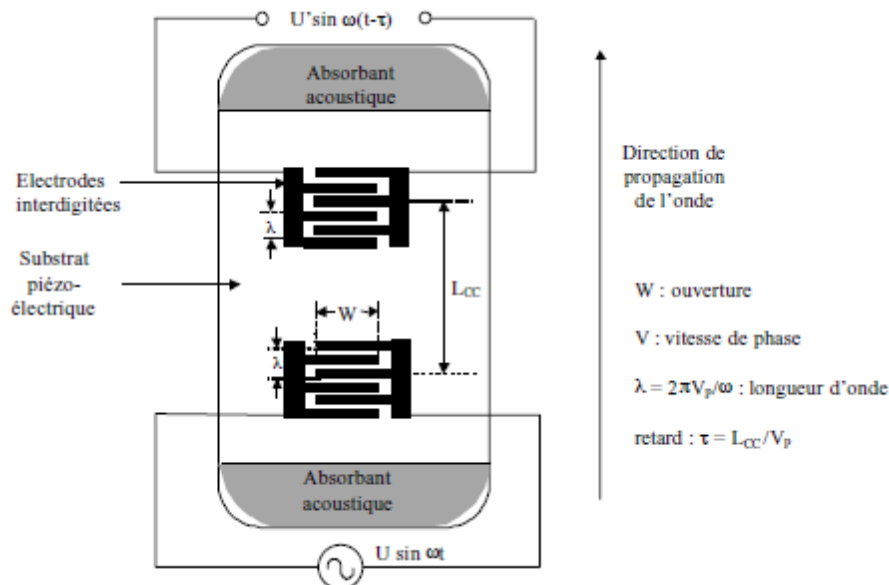


Figure 1.20 – Ligne à retard [81]

L'utilisation d'onde SH-APM a pu être démontrée pour une utilisation en milieu liquide [82]. Dans ce cas, l'onde est générée par une ligne à retard et guidée par réflexion entre les deux faces d'une plaque mince. Cette structure possède l'avantage de pouvoir découpler la partie électronique de la partie fluide en utilisant un côté de la plaque pour la génération/détection de l'onde et l'autre pour réaliser les interactions biologiques. La relation liant l'information de dépôt de masse et la variation en fréquence est complexe mais a pu être modélisée par Estevan et al. [83] et une sensibilité de 2ppm/ng a pu être obtenue.

Pour les dispositifs à onde de surface, les capteurs à onde de Love [84] sont les plus adaptés car le confinement important de l'onde dans une couche guidante permet d'obtenir une bonne sensibilité, et l'amplitude des vibrations (qui sont dans le plan du capteur) est beaucoup moins atténuée que pour les capteurs à ondes de Rayleigh. Les ondes de Love sont générées par un substrat piézoélectrique monté en ligne à retard et sont couplées sous certaines conditions dans une couche mince isotrope déposée en surface. Les déplacements acoustiques présentent une décroissance exponentielle dans le substrat, et quasiment toute l'énergie acoustique est confinée dans la couche guidante épaisse de quelques micromètres. En plus de sa sensibilité, ces dispositifs sont particulièrement intéressants car le découplage entre la partie électrique et fluide est possible grâce au recouvrement des peignes interdigités par la couche guidante, évitant tout contact entre ces deux milieux.

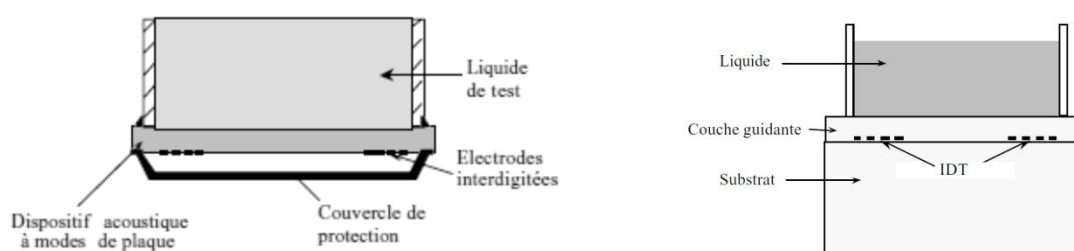


Figure 1.21 - Exemple d'intégration de cellule fluide sur des capteurs SH-APM (A) et à onde de love (B) [81]

En utilisant cette configuration, Fertier et al. [85] ont pu détecter l'interaction entre le peptide antigénique HA et l'anticorps murine anti-HA. Le capteur a montré une limite de détection pour une concentration en anticorps de 0.05 $\mu\text{g/mL}$ et une saturation de la surface pour une concentration de 5 $\mu\text{g/mL}$. Les auteurs précisent de plus que le faible seuil de détection du dispositif (3 $\text{pg}\cdot\text{mm}^{-2}$) a pu être obtenu non seulement grâce au développement du dispositif mais aussi grâce au processus de biofonctionnalisation.

1.5 Miniaturisation des dispositifs

Les procédés de détection utilisés à l'heure actuelle dans le diagnostic médical font souvent appel à des opérations complexes, coûteuses et chronophages. La démocratisation des procédés de microfabrication a permis récemment d'apporter des solutions en termes de réduction de coût d'analyse, de simplification des procédés, de rapidité de réponse des dispositifs et de sensibilité de détection grâce à l'utilisation de techniques innovantes. Deux voies exploratoires de miniaturisation

sont étudiées, la réduction/simplification de procédé existant et/ou l'utilisation de méthodes de détection mesurant des interactions se produisant uniquement dans le « micro » ou « nano » monde.

1.5.1 Définitions

Dans un premier temps, il est nécessaire de préciser les échelles de miniaturisation atteintes pour les biocapteurs. Les solutions de miniaturisation sont issues de procédés de fabrication dérivés de la microélectronique et plus récemment de la nanoélectronique. Les composants réalisés sont appelés respectivement microsystèmes et nanosystèmes. Les microsystèmes s'entendent pour des composants dont la taille est inférieure au cm et allant jusqu'au 1/10 de μm , les nanosystèmes pour une taille inférieure à 100 nm.

Issus de l'électronique, les microcomposants ont rapidement intégré des parties mécaniques, optiques ou fluidiques qui ont permis de combiner sur un même substrat des capteurs, des actionneurs, du traitement électronique de données, des interfaces fluidiques... Ces composants se retrouvent sous les désignations génériques de MEMS, Micro-Electro Mechanical System, ou NEMS, Nano Electro-Mechanical System. Les techniques de micro/nano fabrication se sont avérées très intéressantes pour réaliser des dispositifs biologiques ou médicaux et ont données naissances aux BioMEMS/BioNEMS. Un BioMEMS/BioNEMS est donc un système de taille micrométrique/nanométrique destiné à la modification, au traitement, au stockage, à la délivrance de molécules ou bien encore à la détection d'entités biologiques, basé sur des phénomènes d'actionnement et/ou de transductions électromécaniques. Ces microsystèmes sont intégrés principalement à des laboratoires sur puce (lab-on-a-chip), appelés aussi μTAS (micro Total Analysis System).

1.5.2 Intérêts

La première piste développée pour ces microsystèmes est la réduction / simplification de procédés de mesure existants. Elle permet de réduire les volumes des réactifs utilisés, les échantillons de patient à prélever, les coûts et les temps de transport, les volumes morts, la consommation d'énergie, les temps d'analyses, le nombre d'appareil à utiliser...etc.... L'intégration des éléments d'actionnement et de mesure sur un même substrat permet une mesure rapide et directe, les étapes se succédant par continuité. La parallélisation des analyses rend aussi possible la détermination de plusieurs paramètres importants simultanément.

Cependant, ces techniques de réduction d'échelle par imitation de techniques issues du macro-monde n'est pas la voie la plus prometteuse pour la réalisation de systèmes miniaturisés intelligents. L'exploitation de phénomènes spécifiques au micro-monde ouvre la voie à de nouvelles méthodes de mesure et/ou d'actionnement, proposant des solutions innovantes pour accroître la sensibilité de détection, l'actionnement d'objets de plus en plus petits ou l'ajout de fonctionnalités supplémentaires (système autonome, transmission sans fils...). Du fait du facteur d'échelle, les forces d'adhésion deviennent prépondérantes et les effets de masse négligeables (effet de volume). Les variations locales ont alors des effets beaucoup plus prononcés comme les variations de température, de taux d'humidité, de charges électriques, de charges magnétiques mais aussi les

perturbations extérieures (vibrations mécaniques...). Un exemple de cette augmentation de sensibilité en fonction de la réduction dimensionnelle des dispositifs est visible avec les capteurs résonants. Basés sur une mesure de glissement de la fréquence de résonance, ils obéissent à la relation de Sauerbrey [86] :

$$\frac{\Delta f}{f} \propto \frac{\Delta m}{2m}$$

La sensibilité de ces dispositifs est donc inversement proportionnelle à leurs masses. Le système sera d'autant plus sensible que ses dimensions seront faibles. Ainsi, ces capteurs de masse ont pu atteindre récemment des résolutions de l'ordre du poids d'un atome grâce à l'utilisation de nanotubes de carbone par exemple [87].

La réduction de la taille des dispositifs permet aussi d'être au plus près du processus biologique à étudier et permet d'envisager des dispositifs implantables pour la délivrance localisée de médicaments ou bien encore des systèmes biomimétiques comme nous avons pu le voir précédemment avec les polymères à empreinte moléculaire. Enfin, comme illustré sur les biocapteurs résonant, la miniaturisation des dispositifs permet une amélioration de la sensibilité des dispositifs malgré un rapport signal sur bruit très défavorable, les signaux étudiés étant de faible amplitude et le bruit identique à celui perçu dans le macromonde.

Du fait de la miniaturisation des dispositifs, il convient d'utiliser les propriétés surfaciques ou massives particulières d'un matériau pour l'intégration des différentes fonctions. Les matériaux les plus utilisés sont le silicium comme semi-conducteur, la silice comme isolant ou encore le quartz comme matériau piézoélectrique. Les procédés issus de la microélectronique ont été développés sur le silicium. Le silicium sert de substrat à la majorité des applications, ses propriétés et ses techniques de microfabrication étant très développées. De plus, l'ajout de couche ou d'élément d'inclusion dans leur structure permet de modifier les propriétés de ces matériaux afin de les rendre compatibles avec certaines technologies. L'intégration de nouvelles fonctions au sein des MEMS a favorisé l'apparition de nouveaux matériaux afin d'avoir des propriétés structurales ou fonctionnelles différentes et des sensibilités améliorées. De plus, l'intégration d'éléments de plus en plus petits et de géométries très complexes favorise le développement de nouvelles techniques de fabrication offrant un large panel de structures aux propriétés avancées.

1.5.3 Les réseaux de capteurs

L'augmentation de la sensibilité de mesure par la réduction des dimensions des dispositifs (NEMS) énoncée précédemment est très intéressante mais entraîne néanmoins une augmentation de la fragilité des dispositifs, des difficultés d'intégration et une augmentation des coûts de fabrication. Une autre stratégie utilisée pour accroître la sensibilité de dispositifs résonants, tout en conservant des dimensions micrométriques des éléments actifs, est de réaliser des structures couplées les unes aux autres.

L'idée est par exemple de réaliser deux résonateurs identiques et de les coupler. On obtient alors une structure classique ressort-masse-ressort-masse-ressort, avec deux modes de vibration, en phase et en opposition de phase, présentant des amplitudes de déplacement identiques pour les deux capteurs.

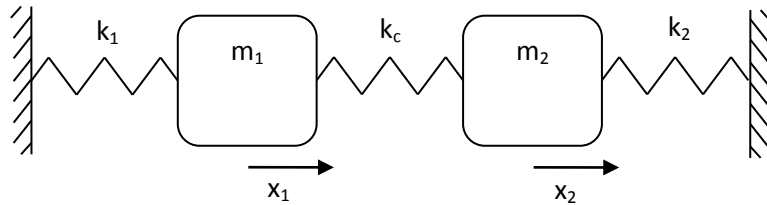


Figure. 1.22 - Schéma équivalent d'un capteur résonant couplé

Un ajout de masse sur l'un des deux capteurs engendre une dissymétrie du système. Ceci induit une « localisation » des modes de vibration, les amplitudes ne sont alors plus identiques. Des études [88-90] ont montré que la variation en amplitude à la résonance est deux à trois ordres de grandeurs plus importante que la variation en fréquence. Un système de capteurs vibrants couplés obéit à la relation suivante [90]:

$$\frac{\Delta u}{u} = \frac{\Delta m}{4m} * \frac{k}{k_c}$$

Où Δu représente la variation de l'amplitude à la fréquence de résonance, u l'amplitude à la fréquence de résonance du système, Δm l'addition de masse et m la masse du dispositif, k_c la constante de raideur du ressort de couplage et k la constante de raideur d'un capteur.

Deux nouveaux paramètres, k_c et k , en plus de la masse du dispositif permettent d'améliorer la sensibilité. Dès lors que $k_c < k/2$, il est avantageux d'utiliser deux capteurs couplés plutôt qu'un système isolé. Des systèmes de ce type, comportant de 2 à 15 résonateurs couplés ont été étudiés et fabriqués par différentes équipes de recherche : il a été montré que 2 à 3 ordres de grandeur pouvaient être gagnés [91]. De plus, du fait du couplage entre plusieurs éléments sensibles, il y a naturellement une réjection du mode commun, ce type de capteur est donc moins sensible aux grandeurs d'influence.

En plus de la réalisation de capteurs couplés permettant un gain en sensibilité du dispositif, il est aussi possible de réaliser de nombreux capteurs sur même support (wafer) et ainsi former une matrice de capteurs qui permettra de suivre en parallèle plusieurs interactions biologiques. Il est alors possible, soit d'utiliser le même mode d'excitation, mais de biofonctionnaliser différemment les membranes, soit de varier les modes d'excitation utilisés pour la détection. De ces deux façons qui

consistent à mener une analyse multiplexée, des informations complémentaires vont pouvoir être déduites de l'échantillon biologique testé (par exemple plusieurs biomarqueurs différents détectés lors d'une seule analyse)

1.6 L'arséniure de Gallium pour une application biocapteur miniature

Que ce soit au niveau des techniques de transduction, des connaissances sur les biorécepteurs ou encore sur l'interface permettant la fixation spécifique de ces derniers sur le transducteur, la multitude de solutions proposées permet l'adaptation de techniques de détection appropriées pour le suivi d'interactions biologiques particulières. Portée par la perspective d'analyses nomades, en temps réel et à faible coût, la miniaturisation des biocapteurs est en plein essor. Cependant, la réduction des dimensions des dispositifs de mesure ne doit pas engendrer une diminution de la sensibilité de mesure. Les biocapteurs résonants à onde acoustique proposent des solutions très intéressantes dans ce domaine des BioMEMS du fait qu'ils sont d'autant plus sensibles que leurs dimensions sont petites. Dans ce cadre, l'Arséniure de Gallium (GaAs) est un matériau proposant des propriétés très attrayantes pour une application microcapteur car il combine à la fois les propriétés de miniaturisation/d'intégration du silicium et de transduction du quartz [92,93]. De plus, la compatibilité de ce matériau avec de nombreuses techniques de fonctionnalisation et de procédés de micro/nanostructuration de surface fait de ce matériau un candidat idéal pour une application biocapteur. Cependant, sa toxicité limite les possibilités d'utilisation au domaine d'analyse *in vitro*. Nous verrons tout au long de ce manuscrit que la structure et la composition de l'Arséniure de Gallium lui confèrent des propriétés mécaniques et électriques particulières mais jouent aussi un rôle important durant la fabrication et la structuration de la surface active ainsi que lors de la biofonctionnalisation.

1.6.1 Propriétés

Très connu dans le domaine de l'optoélectronique et l'électronique à haute fréquence et grande vitesse, l'arséniure de gallium est rarement utilisé pour des applications microcapteurs, le silicium et le quartz étant les matériaux référents dans ce domaine. Pourtant, ses propriétés physiques en font un candidat de choix pour la conception de capteurs, notamment grâce à ses propriétés optiques ainsi que ses caractéristiques piézoélectriques.

D'un point de vue mécanique, bien que fragiles (densité de défauts plus importante que pour le silicium), les microcomposants GaAs sont plus résistants que ceux fabriqués en quartz mais demeurent deux fois moins résistants que ceux réalisés en silicium. Sa structure zinc blende lui confère une déformation élastique anisotrope. Sa rigidité est 30% moindre que celle du silicium ce qui nécessite une augmentation d'épaisseur des dispositifs de 11% pour obtenir la même rigidité. De plus, il est moins résistant à la fatigue, au choc et aux variations de température. Malgré cela, les caractéristiques mécaniques des microcomposants en arséniure de gallium sont suffisantes pour envisager son utilisation dans des microstructures performantes pour les biocapteurs. Sa densité importante (deux fois supérieure à celle du silicium) est une qualité recherchée pour des applications de structure résonante ou pour des accéléromètres.

Ses propriétés optiques sont bien connues et utilisées dans de nombreux composants optoélectroniques, des LEDs, des lasers ou encore des cellules photovoltaïques. Sa bande interdite directe lui permet d'émettre de la lumière d'où son application pour la réalisation de LEDs ou de lasers. Cette propriété est utilisée dans le domaine des capteurs pour la mesure de température ou de force hydrostatique, en observant les variations de longueur d'onde de photoluminescence [94]. Le caractère piézo-optique est aussi exploité pour les mesures de force, l'application d'une force asymétrique modifiant la symétrie du cristal et par conséquent son indice optique. Ainsi, le cristal isotrope optiquement devient biréfringent (anisotrope) sous l'application d'une force uniaxiale. L'excitation résonante mécanique de la structure est aussi possible optiquement grâce à l'utilisation de laser et la détection du mouvement par une photodiode. Une haute fréquence de résonance (de l'ordre du GHz) peut être atteinte [95].

La mise en résonance mécanique de la structure est aussi possible grâce à l'utilisation des propriétés piézoélectriques de l'arséniure de gallium semi-isolant et permet la génération d'ondes de volume longitudinales, de flexion, de torsion ou de cisaillement couvrant une large gamme de fréquence, du Khz à quelques GHz. Deux types de configurations d'électrodes peuvent être utilisées : l'excitation d'épaisseur (TFE, Thickness Field Excitation), avec des électrodes de part et d'autre du substrat, ou l'excitation latérale (LFE, Lateral Field Excitation) permettant le report des électrodes sur une seule face et donc d'obtenir une zone active dépourvue d'électrodes. Les coefficients de couplage permettant la conversion d'énergie électrique/mécanique sont respectivement de 4.3% et 6.1% [92], ce qui est plus faible que le quartz (10%). Comme pour le quartz, des ondes de cisaillement peuvent être activées permettant l'obtention d'ondes faiblement atténuées en milieu liquide. La génération d'ondes acoustiques de surface est aussi possible dans une gamme de fréquence de 0.01 à 1.5 GHz.

Pour la mesure de contraintes extérieures, comme la pression liée à une addition de masse par exemple, la piézorésistivité de l'arséniure de gallium permet d'obtenir des sensibilités jusqu'à 4 fois supérieures à celle du silicium tout en diminuant l'influence de la température grâce à l'utilisation de couche AlGaAs [93,96], l'ajout d'atomes dans la structure d'arséniure de gallium ayant tendance à réduire la thermorésistivité du matériau. Mais le coefficient d'expansion thermique de l'AsGa est assez important, l'élasticité et les dimensions de la structure seront donc modifiées en fonction de la température extérieure. Cette instabilité va induire des variations sur les propriétés du matériau, notamment sur la fréquence de résonance. A contrario, certaines orientations du cristal de quartz sont relativement insensibles à la température (coupe AT), ce qui explique qu'il soit utilisé comme résonateur référent dans de nombreuses applications, la plus connue étant les mouvements horlogers et les oscillateurs ultrastables.

1.6.2 Miniaturisation

Contrairement au quartz, les techniques de microfabrication sont très développées pour l'usinage de l'arséniure de gallium. La plupart des structures réalisées en silicium sont adaptables à l'arséniure de gallium. On retrouve ainsi les techniques classiques d'usinage utilisées pour le silicium, telles que la gravure humide, l'électrochimie, la gravure sèche ou encore les techniques de « bonding », c'est-à-dire la création de liaisons permanentes ou non d'un dispositif GaAs avec des dispositifs composés de divers matériaux, principalement silicium ou verre.

La technique de gravure humide est une technique très employée dans la mise en forme de microstructures. Ses principaux avantages sont les possibilités de production massive, reproductible et à faible coût mais aussi sa facilité de mise en œuvre. Elle est particulièrement adaptée pour la gravure de structures profondes. Les techniques de gravure sèche peuvent aussi être utilisées sur l'arséniure de gallium et permettent d'obtenir des profils plus résolus et/ou verticaux. Ces techniques restent cependant majoritairement utilisées pour des gravures de faible profondeur, les vitesses de gravure étant plus lentes.

Dans le cas de gravure humide profonde, il est parfois nécessaire d'avoir recours à l'utilisation de couche sacrificielle pour obtenir un meilleur contrôle de la profondeur et de la forme du fond de la cavité usinée. La couche sacrificielle la plus fréquemment utilisée est composée d'AlGaAs et permet l'obtention de membranes fines mais nécessitant la réalisation de couche épitaxiée AlGaAs/GaAs (procédé long, unitaire et coûteux). L'implantation ionique profonde permet aussi l'obtention de couche sacrificielle. Miao et al. montrent une application de l'implantation ionique profonde couplée à une attaque électrochimique sélective pour la réalisation de membranes très fines [97]. L'attaque électrochimique est une technique bien adaptée à l'arséniure de gallium du fait qu'il peut être à la fois semi-conducteur et isolant.

Les possibilités d'intégration de structures en arséniure de gallium avec d'autres dispositifs sont un enjeu crucial pour la réalisation de MEMS et tout particulièrement pour les bioMEMS nécessitant l'utilisation d'une cellule fluide. Des techniques permanentes ou réversibles peuvent être envisagées pour la réalisation de structures, de dispositifs multi-matériaux, généralement GaAs / silicium ou GaAs / verre [98]. Les techniques réversibles consistent généralement à utiliser de la colle pour réaliser une liaison forte entre deux ou plusieurs éléments, cette liaison pouvant être par la suite détruite par dissolution de la colle. Cette technique peu chère et facile à mettre en œuvre facilite l'intégration de la quasi totalité des matériaux avec l'arséniure de gallium : le quartz, le verre, le silicium, la silice et les métaux. Des machines spécifiques d'automatisation de ces procédés d'assemblage par collage sont développées comme par exemple celles développées par la société Electronic Vision [99] ou SUSS MicroTec. Cette technique est principalement adaptée pour l'aminçissement et/ou les usinages face arrière de microcomposants fragiles, permettant ainsi une meilleure préhension et réduisant fortement les risques de casse lors de la mise en œuvre de tels procédés [98]. Les techniques d'assemblage permanent sont identiques à celles proposées pour le silicium : l'assemblage anodique, la fusion ou assemblage direct ou l'assemblage par thermocompression. Ces assemblages directs de wafers (DWB, direct wafer bonding) peuvent nécessiter ou non l'ajout d'une ou plusieurs couche(s) intermédiaire(s). Ces procédés seront cependant limités par la différence de coefficients de dilatation entre les matériaux à assembler, empêchant une montée trop importante en température. Dans le cas de GaAs semi-isolant, les méthodes d'assemblage utilisant une différence de potentiel ne pourront être appliquées. L'assemblage de GaAs avec la plupart des semiconducteurs III-V, le silicium ou la silice, le verre et le saphir est envisageable dans la plupart des cas, nécessitant quelques aménagements. Les liaisons créées par ces techniques permettent une tenue mécanique plus favorable, une meilleure maîtrise des dimensions géométriques (épaisseur, planéité...) et une compatibilité avec des procédés où l'utilisation de colle est à bannir, comme par exemple des problèmes de biocompatibilité des colles pour les biocapteurs.

1.6.3 Propriétés surfaciques et micro/nano-structuration

Les propriétés de transduction et de fabrication de l'arséniure de gallium sont très intéressantes pour la réalisation d'un capteur miniature de haute sensibilité. Pour une application biocapteur, il est nécessaire d'intégrer sur le transducteur une partie bioreconnaissance qui va pouvoir détecter très sélectivement le ou les analytes à quantifier. L'arséniure de gallium, de par ses propriétés structurales surfaciques, possède là encore de nombreux atouts. La forte réactivité de sa surface lui confère des fonctionnalités très singulières pour le greffage de biorécepteurs, que se soit par absorption, par greffage covalent ou par inclusion piégeage. Étudiées pour leurs capacités à modifier le comportement électronique de la surface, les monocouches auto-assemblées (SAM, self assembled monolayer) sur GaAs sont connues et la formation quasi spontanée d'un oxyde natif en présence d'oxygène permet d'adapter la plupart des SAMs usuelles. La chimie des thiols, développée pour les surfaces métalliques (or), et la chimie des silanes, exploitée sur les surfaces oxydées (SiO_2), entre autres peuvent être adaptées à la fonctionnalisation de la surface de GaAs respectivement désoxydée et oxydée. Cependant, la majorité des études utilisent le substrat GaAs désoxydé, afin de travailler directement sur le cristal. Peu d'applications en effet utilisent la surface oxydée de l'arséniure de gallium, la couche de thiols étant la plus souvent utilisée, notamment pour passiver la surface et éviter cette reformation d'oxyde [100]. Nous verrons comment en combinant des chaînes de nature et/ou de longueurs différentes ainsi que des groupements fonctionnels variés, ces monocouches autoassemblées confèrent à la surface des fonctionnalités particulières permettant in fine l'organisation d'une couche biologique sensible organisée pour la détection sélective d'un analyte d'intérêt dans un fluide biologique.

La structuration de surface joue un rôle important pour la conception d'une interface performante [101]. Le gain en sensibilité peut provenir à la fois d'une augmentation de la surface d'échange entre le milieu et le transducteur, augmentant potentiellement le nombre d'éléments pouvant être greffés en surface, mais aussi de l'organisation atomique particulière à la surface du matériau. Du fait de la dualité atomique Ga/As et de l'organisation zinc blende, les atomes exposés en surface vont varier suivant le plan cristallin utilisé. La surface sera alors plus ou moins réactive en fonction de cette organisation atomique. Le développement de techniques de structuration de surface permet de jouer sur ces deux paramètres. Des techniques de structuration par gravure ou par croissance peuvent être appliquées au GaAs pour conférer des propriétés particulières à la surface à l'échelle micrométrique ou nanométrique, comme par exemple la gravure humide [102], la gravure électrochimique [103], la gravure sèche [104], l'épitaxie [105] ou encore grâce à la formation de nanofils [106,107].

Conclusion : Architecture du biocapteur

Les propriétés de l'arséniure de gallium exposées précédemment mettent en évidence le fort potentiel de ce matériau pour la réalisation d'un biocapteur miniature performant. Les qualités de ce monocristal permettent d'envisager l'utilisation de ce matériau à la fois comme substrat mais aussi comme transducteur intégrant une surface de bioreconnaissance et d'utiliser l'organisation spécifique de ces différents plans cristallins afin d'obtenir un transducteur sensible, une géométrie 3D bien maîtrisée et des fonctionnalités de surface adaptées à la biodétection. L'utilisation du matériau massif laisse présager de plus une régénération possible de la surface active permettant une réutilisation du biocapteur pour de nombreuses analyses.

Les propriétés de transduction variées de l'arséniure de gallium sont à l'origine de nombreuses applications capteur pour la mesure de pression / contraintes [¹⁰⁸⁻¹¹¹], d'accélération [^{112, 113}], de température [^{114, 115}], des propriétés de fluide [^{116, 117}] ou encore comme biocapteur [^{65, 118-121}]. Les propriétés d'activation et de détection utilisées sont variées : optiques [¹²⁰], piézo-optiques [^{95, 111, 112, 115}], résistivité thermique [^{109, 114, 122}], capacitives [¹¹⁰], magnétiques (effet hall) [¹¹⁸], transistors à effet de champ [^{65, 119, 121}], potentiométriques [¹¹⁷], piézorésistives [¹²³] ou piézoélectriques à ondes de volume [^{108, 113}] et ondes de surfaces [^{116, 124}]. Cependant, à notre connaissance, aucune application biocapteur n'utilise les propriétés piézoélectriques de l'arséniure de gallium comme méthode d'actionnement et de détection.

Hjort et Söderkvist ont montré dans différentes publications [^{92, 93, 125-127}] le potentiel de l'arséniure de gallium semi-isolant pour une application capteur. Ils montrent les capacités de ce matériau en tant que transducteur à ondes acoustiques notamment grâce à ses bonnes propriétés piézoélectriques et établissent un comparatif avec le quartz et le silicium qui sont respectivement les deux matériaux de référence pour la piézoélectricité et pour la fabrication de microstructures. L'arséniure de gallium est exposé comme une alternative très intéressante car il combine chacune des propriétés de ces deux matériaux malgré des performances légèrement moindres. Dès lors, un biocapteur résonant en arséniure de gallium s'impose comme une alternative très intéressante à la microbalance à quartz, qui fait référence dans le domaine des biocapteurs piézoélectriques résonants, en proposant des solutions d'intégration, de multiplexage, de fonctionnalisation et de régénération plus avantageuses.

Comme pour les microbalances à quartz, divers modes de vibrations peuvent être utilisés. L'utilisation d'ondes de cisaillement d'épaisseur (de l'ordre du MHz à quelques centaines de MHz suivant l'épaisseur et l'harmonique utilisé) est largement préconisée afin d'obtenir une sensibilité maximale pour une application en milieu liquide. Ces ondes sont générées grâce à une excitation électrique latérale (LFE), démontrée par Ballato et al. [¹²⁸]. Cette méthode d'excitation permet l'obtention de meilleurs coefficients de couplage piézoélectrique qu'avec le TFE [¹²⁹] et facilite l'intégration d'une cellule fluide grâce au découplage de la partie milieu biologique de la partie électronique comme nous l'avons vu avec les capteurs à ondes de Love ou SH-APM (§1.4.3.2.2).

La structure du capteur imaginée est reprise dans la Figure 1.23. Ce biocapteur est composé d'une membrane à actionnement et détection piézoélectrique intégrés où sont reportées, sur une face, les électrodes et, sur l'autre, la partie bioreconnaissance. Les ondes acoustiques de volume générées suivant un mode de cisaillement se propagent perpendiculairement à la membrane (en bleu) et induisent un déplacement des particules dans l'épaisseur de la membrane (en rouge). La fréquence de résonance sera fonction de l'harmonique utilisé et de l'épaisseur de la membrane. Comme vu au paragraphe 1.5.2, le capteur sera d'autant plus sensible que l'épaisseur (e_p) de la membrane sera faible, dans la limite de la résistance de la structure. L'épaisseur du substrat (e_{substrat}) devra fournir une résistance suffisante pour l'intégration du capteur (cellule fluide, interface électrique) mais aussi conserver des propriétés géométriques (planéité, épaisseur) satisfaisantes pour le façonnage de la membrane. Le choix de l'orientation cristalline du wafer utilisé devra être compatible avec une activation d'onde acoustique idéale et une organisation optimale de la surface de bioreconnaissance.

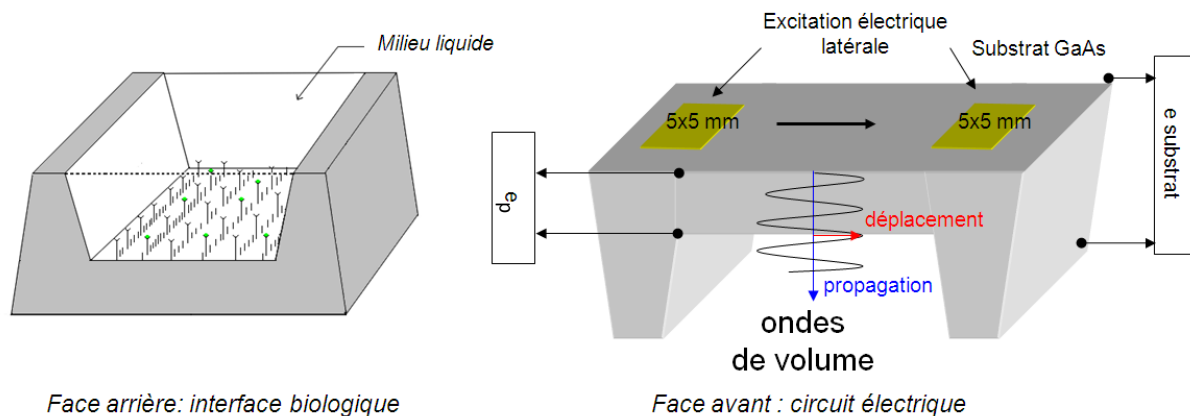


Figure 1.23 - Structure théorique du biocapteur en arséniure de gallium

Dans une optique de fabrication à bas coût, nous utiliserons autant que possible des méthodes de fabrication collectives. La plupart des structures membranaires que nous retrouvons dans la littérature utilisent des hétérostructures composées de couches sacrificielles réalisées par épitaxie ou par implantation ionique, suivies d'étapes de gravure sélective. Pour conserver les propriétés piézoélectriques du matériau, les membranes sont généralement très fines, inférieures à $5\mu\text{m}$ pour l'épitaxie et $2.5\mu\text{m}$ pour l'implantation ionique [130] ; or ces procédés nécessitent un grand nombre d'opérations qui sont longues et coûteuses (dépôt, recuit, plusieurs attaques sélectives...etc...). Afin d'obtenir des membranes d'épaisseur plus importante et à faible coût, nous ferons le pari d'utiliser seulement un procédé de gravure humide.

Ce capteur à onde acoustique de volume est, comme la microbalance à quartz, parfaitement adapté pour une application de biocapteur à affinité pour la détection sans marquage de biomolécules ou cellules. Nous souhaitons développer avec cette technique un capteur capable de détecter et de doser des biomarqueurs pertinents (antigènes) présents en très faible concentration dans un milieu biologique complexe (sang, plasma). Les biorécepteurs utilisés seront donc des anticorps. Il est nécessaire de développer une stratégie pour immobiliser ces protéines sur la surface. Nous utiliserons dans un premier temps une protéine modèle, l'albumine sérum de rat (RSA), pour réaliser nos essais de greffage.

L'immobilisation de ces biorécepteurs à la surface du transducteur se fera par l'intermédiaire d'une couche auto-assemblée. Ce procédé de fonctionnalisation, reproductible et simple à mettre en œuvre, est lui aussi compatible avec une logique de conception d'un biocapteur à faible coût. Il permet de plus d'avoir une bonne maîtrise de la couche greffée. Nous utiliserons une couche auto-assemblée mixte, constituée d'un groupement d'accroche thiolé (-SH), d'une chaîne carbonée alkyle de longueur variable et de différents groupes terminaux fonctionnels. Le choix de ce type de molécules a été initié au sein de notre équipe sur les puces d'or et a montré son efficacité sur la détection et l'analyse de biomarqueurs sans marquage par SPR. De nombreux articles ont montré les possibilités de fonctionnalisation de la surface d'arséniure de gallium par des couches autoassemblées composées de groupement thiol, mais très peu visaient une application biologique,

utilisant principalement les alkanethiols [¹³¹, ¹³²] pour la passivation de surface. Nous étudierons donc les méthodes utilisées pour fonctionnaliser l'arséniure de gallium afin de conférer une surface dédiée au suivi d'interactions anticorps / antigène. Nous avons pour cela principalement étudié la densité de la couche de protéines greffées, les types de liaisons créées entre les anticorps et la monocouche de thiols, et la répartition protéique sur la surface grâce à différentes méthodes de caractérisation.

Le déroulé de cette thèse s'articulera donc, dans un premier temps, autour de la modélisation de la réponse du transducteur en arséniure de gallium. Puis, nous verrons la méthodologie de fabrication adaptée pour la réalisation d'une telle structure. Nous étudierons ensuite comment accroître les performances de l'interface chimique par microstructuration en optimisant le greffage en qualité et en quantité. Nous nous intéresserons particulièrement à la fonctionnalisation de la surface d'arséniure de gallium par les alkanethiols et nous étudierons l'influence de la composition de cette couche pour la réalisation d'une interface de biorecognition efficace. Nous caractériserons notamment l'organisation de cette couche et l'influence du taux des différents groupements fonctionnels terminaux permettant la fixation optimale des anticorps de protéines sur la surface. Enfin, nous terminerons par la conception des bancs de tests sur lesquels nous éprouverons nos premiers dispositifs.

Références

1. Clark, L. C.; Lyons, C., Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1962**, 102, (1), 29-45.
2. Guilbault, G. G.; Kramer, D. N.; Cannon, P. L., Electrical Determination of Organophosphorous Compounds. *Analytical Chemistry* **1962**, 34, (11), 1437-1439.
3. Updike, S. J.; Hicks, G. P., The Enzyme Electrode. *Nature* **1967**, 214, (5092), 986-988.
4. Guilbault, G. G.; Montalvo, J. G., Urea-specific enzyme electrode. *Journal of the American Chemical Society* **1969**, 91, (8), 2164-2165.
5. Yoo, E.-H.; Lee, S.-Y., Glucose Biosensors: An Overview of Use in Clinical Practice. **2010**, 10, (5), 4558-4576.
6. Justino, C. I. L.; Rocha-Santos, T. A.; Duarte, A. C.; Rocha-Santos, T. A., Review of analytical figures of merit of sensors and biosensors in clinical applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2010**, 29, (10), 1172-1183.
7. Liedberg, B.; Nylander, C.; Lunström, I., Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing. *Sensors and Actuators* **1983**, 4, (0), 299-304.
8. Ghoshal, S.; Mitra, D.; Roy, D.; Majumder, D. D., Biosensors and Biochips for Nanomedical Applications: a Review. *Sensors and Transducers Journal* **2010**, 113, (2), 1-17.
9. Dupont, D., Application des biocapteurs dans l'industrie alimentaire. *Techniques de l'ingénieur*, F 4010, pp 1-15.
10. Nakamura, H.; Karube, I., Current research activity in biosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2003**, 377, (3), 446-468.
11. Alava, T. Conception, fabrication, caractérisation de micromembranes résonantes en silicium, à actionnement piézoélectrique et détection piézorésistive intégrés appliquées à la détection d'agents biologiques simulant la menace. PhD, Université de Toulouse, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2010.
12. Nomura, Y.; Chee, G.-J.; Karube, I., Biosensor technology for determination of BOD. *Field Analytical Chemistry & Technology* **1998**, 2, (6), 333-340.
13. Nakanishi, K.; Ikebukuro, K.; Karube, I., Determination of cyanide using a microbial sensor. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **1996**, 60, (2), 97-106.
14. Centi, S.; Laschi, S.; Franek, M.; Mascini, M., A disposable immunomagnetic electrochemical sensor based on functionalised magnetic beads and carbon-based screen-printed electrodes (SPCEs) for the detection of polychlorinated biphenyls (PCBs). *Analytica Chimica Acta* **2005**, 538, 205-212.
15. Joshi, K. A.; Tang, J.; Haddon, R.; Wang, J.; Chen, W.; Mulchandani, A., A Disposable Biosensor for Organophosphorus Nerve Agents Based on Carbon Nanotubes Modified Thick Film Strip Electrode. *Electroanalysis* **2005**, 17, (1), 54-58.
16. Pathirana, S. T.; Barbaree, J.; Chin, B. A.; Hartell, M. G.; Neely, W. C.; Vodyanoy, V., Rapid and sensitive biosensor for Salmonella. *Biosensors and Bioelectronics* **2000**, 15, (3-4), 135-141.
17. Hobson, N. S.; Tothill, I.; Turner, A. P. F., Microbial detection. *Biosensors and Bioelectronics* **1996**, 11, (5), 455-477.
18. Sadana, A.; Sadana, N., *Handbook of biosensors and biosensor kinetics*. Elsevier: **2010**; p 536.
19. Luong, J. H.; Male, K. B.; Glennon, J. D., Biosensor technology: technology push versus market pull. *Biotechnol Adv* **2008**, 26, (5), 492-500.
20. Higson, S. P. J.; Reddy, S. M.; Vadgama, P. M., Enzyme and other biosensors: evolution of a technology. *Engineering Science and Education Journal* **1994**, 3, (1), 41-48.
21. Fraser, D. M., Glucose biosensor - The sweet smell of success. *Medical Device technology* **1994**, 5, (9), 44-47.
22. Collings, A. F.; Frank, C., Biosensors: recent advances. *Reports on Progress in Physics* **1997**, 60, (11), 1397-1445.
23. Vo-Dinh, T.; Cullum, B., Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics. *Fresenius J Anal Chem.* **2000**, 366, 540-551.

24. Madou, M.; Tierney, M., Required technology breakthroughs to assume widely accepted biosensors. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **1993**, 41, (1), 109-128.
25. Rosenzweig, Z.; Kopelman, R., Analytical Properties and Sensor Size Effects of a Micrometer-Sized Optical Fiber Glucose Biosensor. *Analytical Chemistry* **1996**, 68, (8), 1408-1413.
26. Lowe, C. R.; Hin, B. F. Y. Y.; Cullen, D. C.; Evans, S. E.; Stephens, L. D. S.; Maynard, P., *J. Chromatography* **1990**, 510, 347.
27. <http://www.didier-pol.net/99ant9c>.
28. Länge, K.; Rapp, B.; Rapp, M., Surface acoustic wave biosensors: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2008**, 391, (5), 1509-1519.
29. Homola, J., Present and future of surface plasmon resonance biosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2003**, 377, (3), 528-539.
30. Ayela, C.; Roquet, F.; Valera, L.; Granier, C.; Nicu, L.; Pugnière, M., Antibody-antigenic peptide interactions monitored by SPR and QCM-D: A model for SPR detection of IA-2 autoantibodies in human serum. *Biosensors and Bioelectronics* **2007**, 22, (12), 3113-3119.
31. Parekh, B. S.; Pau, C.-P.; Kennedy, M. S.; Dobbs, T. L.; McDougal, J. S., Assessment of Antibody Assays for Identifying and Distinguishing Recent from Long-Term HIV Type 1 Infection *AIDS Research and Human Retroviruses* **2001**, 17, 137.
32. Charych, D.; Cheng, Q.; Reichert, A.; Kuziemko, G.; Stroh, M.; Nagy, J. O.; Spevak, W.; Stevens, R. C., A 'litmus test' for molecular recognition using artificial membranes. *Chemistry & Biology* **1996**, 3, (2), 113-120.
33. Piervincenzi, R. T.; Reichert, W. M.; Hellinga, H. W., Genetic engineering of a single-chain antibody fragment for surface immobilization in an optical biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* **1998**, 13, (3-4), 305-312.
34. Haupt, K.; Noworyta, K.; Kutner, W., Imprinted polymer-based enantioselective acoustic sensor using a quartz crystal microbalance. *Analytical Communications* **1999**, 36, (11-12), 391-393.
35. Ayela, C. Micromembranes résonantes à actionnement et détection piézoélectriques intégrés pour la détection de molécules biologiques en temps réel. PhD, Université de Toulouse, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2007.
36. Kriz, D.; Mosbach, K., Competitive amperometric morphine sensor based on an agarose immobilised molecularly imprinted polymer. *Analytica Chimica Acta* **1995**, 300, (1-3), 71-75.
37. Chen, C.-Y.; Karube, I., Biosensors and flow injection analysis. *Current Opinion in Biotechnology* **1992**, 3, (1), 31-39.
38. Hillberg, A. L.; Brain, K. R.; Allender, C. J., Molecular imprinted polymer sensors: Implications for therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2005**, 57, (12), 1875-1889.
39. Caruso, F.; Rodda, E.; Furlong, D. N., Orientational Aspects of Antibody Immobilization and Immunological Activity on Quartz Crystal Microbalance Electrodes. *Journal of Colloid and Interface Science* **1996**, 178, (1), 104-115.
40. Brillhart, K. L.; Ngo, T. T., Use of microwell plates carrying hydrazide groups to enhance antibody immobilization in enzyme immunoassays. *Journal of Immunological Methods* **1991**, 144, (1), 19-25.
41. Leggett, G. J.; Roberts, C. J.; Williams, P. M.; Davies, M. C.; Jackson, D. E.; Tendler, S. J. B., Approaches to the immobilization of proteins at surfaces for analysis by scanning tunneling microscopy. *Langmuir* **1993**, 9, (9), 2356-2362.
42. Wang, J.; Frostman, L. M.; Ward, M. D., Self-assembled thiol monolayers with carboxylic acid functionality: measuring pH-dependent phase transitions with the quartz crystal microbalance. *The Journal of Physical Chemistry* **1992**, 96, (13), 5224-5228.
43. Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M., Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chemical Reviews* **2005**, 105, (4), 1103-1170.
44. Neouze, M.-A.; Schubert, U., Surface Modification and Functionalization of Metal and Metal Oxide Nanoparticles by Organic Ligands. *Monatshefte für Chemie Chemical Monthly* **2008**, 139, 183-195.

45. Furuya, M.; Haramura, M.; Tanaka, A., Reduction of nonspecific binding proteins to self-assembled monolayer on gold surface. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, 14, (2), 537-543.
46. Boireau, W.; Rouleau, A.; Lucchi, G.; Ducoroy, P., Revisited BIA-MS combination: Entire "on-a-chip" processing leading to the proteins identification at low femtomole to sub-femtomole levels. *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, 24, (5), 1121-1127.
47. Monkman, G., Monomolecular Langmuir-Blodgett film - tomorrow's sensors? *Sensor review* **2000**, 20, (2), 127-131.
48. Turko, I. V.; Yurkevich, I. S.; Chashchin, V. L., Oriented immunoglobulin G layer onto the Langmuir-Blodgett films of protein A. *Thin Solid Films* **1992**, 210-211, Part 2, (0), 710-712.
49. Baeumner, A. J.; Leonard, B.; McElwee, J.; Montagna, R. A., A rapid biosensor for viable B. anthracis spores. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, 380, (1), 15-23.
50. Karsilayan, H.; Hemmilä, I.; Takalo, H.; Toivonen, A.; Pettersson, K.; Lövgren, T.; Mikkala, V.-M., Influence of Coupling Method on the Luminescence Properties, Coupling Efficiency, and Binding Affinity of Antibodies Labeled with Europium(III) Chelates. *Bioconjugate Chemistry* **1997**, 8, (1), 71-75.
51. Arwin, H., Is ellipsometry suitable for sensor applications? *Sensors and Actuators A: Physical* **2001**, 92, (1-3), 43-51.
52. Garipcan, B.; Caglayan, M.; Demirel, G., New Generation Biosensors based on Ellipsometry. In *New Perspectives in Biosensors Technology and Applications*, (Ed.), P. A. S., Ed. InTech: 2011.
53. Tjong, V.; Yu, H.; Hucknall, A.; Rangarajan, S.; Chilkoti, A., Amplified On-Chip Fluorescence Detection of DNA Hybridization by Surface-Initiated Enzymatic Polymerization. *Analytical Chemistry* **83**, (13), 5153-5159.
54. Mukundan, H.; Anderson, A.; Grace, W. K.; Grace, K.; Hartman, N.; Martinez, J.; Swanson, B., Waveguide-Based Biosensors for Pathogen Detection. *Sensors* **2009**, 9, (7), 5783-5809.
55. Stamm, C.; Lukosz, W., Integrated optical difference interferometer as immunosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* **1996**, 31, (3), 203-207.
56. Qi, Z.-m.; Matsuda, N.; Itoh, K.; Murabayashi, M.; Lavers, C. R., A design for improving the sensitivity of a Mach-Zehnder interferometer to chemical and biological measurands. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2002**, 81, (2-3), 254-258.
57. http://fr.wikipedia.org/wiki/Résonance_plasmon_de_surface
58. Roh, S.; Chung, T.; Lee, B., Overview of the Characteristics of Micro- and Nano-Structured Surface Plasmon Resonance Sensors. *sensors* **2011**, 11, (2), 1565-1588.
59. Grosjean, L.; Cherif, B.; Mercey, E.; Roget, A.; Levy, Y.; Marche, P. N.; Villiers, M.-B.; Livache, T., A polypyrrole protein microarray for antibody-antigen interaction studies using a label-free detection process. *Analytical Biochemistry* **2005**, 347, (2), 193-200.
60. <http://microgen.ouhsc.edu/biacore.htm>
61. Villiers, M.-B.; Cortès, S.; Brakha, C.; Lavergne, J.-P.; Marquette, C. A.; Deny, P.; Livache, T.; Marche, P. N., Peptide-protein microarrays and surface plasmon resonance detection: Biosensors for versatile biomolecular interaction analysis. *Biosensors and Bioelectronics* **2010**, 26, (4), 1554-1559.
62. Vianello, F.; Ragusa, S.; Cambria, M. T.; Rigo, A., A high sensitivity amperometric biosensor using laccase as biorecognition element. *Biosensors and Bioelectronics* **2006**, 21, (11), 2155-2160.
63. <http://www.esi.umontreal.ca/~badiaa/biocapteurs.pdf>
64. Moll, N. Étude et réalisation d'un système immunocapteurs à ondes de Love : application à la détection de toxines, de virus ou de bactéries. université bordeaux 1, Bordeaux, 2007.
65. Lee, C.-S.; Kim, S. K.; Kim, M., Ion-Sensitive Field-Effect Transistor for Biological sensing. *Sensors* **2009**, 9, 7111-7131.
66. Zayats, M.; Huang, Y.; Gill, R.; Ma, C.-a.; Willner, I., Label-Free and Reagentless Aptamer-Based Sensors for Small Molecules. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, (42), 13666-13667.
67. Milgrew, M. J.; Riehle, M. O.; Cumming, D. R. S., A large transistor-based sensor array chip for direct extracellular imaging. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2005**, 111-112, (0), 347-353.

68. Ercole, C.; Gallo, M. D.; Pantalone, M.; Santucci, S.; Mosiello, L.; Laconi, C.; Lepidi, A., A biosensor for Escherichia coli based on a potentiometric alternating biosensing (PAB) transducer. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2002**, 83, (1-3), 48-52.
69. Sergeyeva, T. A.; Piletsky, S. A.; Panasyuk, T. L.; El'skaya, A. V.; Brovko, A. A.; Slinchenko, E. A.; Sergeeva, L. M., Conductimetric sensor for atrazine detection based on molecularly imprinted polymer membranes. *Analyst* **1999**, 124, (3), 331-334.
70. Yue, M.; Stachowiak, J. C.; Lin, H.; Datar, R.; Cote, R.; Majumdar, A., Label-Free Protein Recognition Two-Dimensional Array Using Nanomechanical Sensors. *Nano Letters* **2008**, 8, (2), 520-524.
71. Nuryadi, r., Relationship between Wheatstone Bridge Circuit and Femtogram Particles Attached on Piezoresistive Microcantilever in Biosensor Application. *Journal of fundamental sciences* **2011**, 7, (2), 97-100.
72. Johansson, A.; Calleja, M.; Rasmussen, P. A.; Boisen, A., SU-8 cantilever sensor system with integrated readout. *Sensors and Actuators A: Physical* **2005**, 123â-124, (0), 111-115.
73. Dieulesaint, E.; Royer, D., *Ones élastiques dans les solides, Tome 1, "propagation libre et guidée"*. Masson ed.; Paris, 1996.
74. Brizoual, L.; Sarry, F.; Elmazria, O.; Alnot, P.; Ballandras, S.; Pastureaud, T., GHz frequency ZnO/Si SAW device. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*. **2008**, 55, (2), 442-50.
75. Sauerbrey, G., Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung. *Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei* **1959**, 155, (2), 206-222.
76. King, W. H., Piezoelectric Sorption Detector. *Analytical Chemistry* **1964**, 36, (9), 1735-1739.
77. <http://www.q-sense.com/>
78. http://www.initium2000.com/en/Flyer_AFFINIXQN_Q4.pdf
79. Lederer, T.; Stehrer, B. P.; Bauer, S.; Jakoby, B.; Hilber, W., Utilizing a high fundamental frequency quartz crystal resonator as a biosensor in a digital microfluidic platform. *Sensors and Actuators A: Physical* **2011**, 172, (1), 161-168.
80. Bunde, R. L.; Jarvi, E. J.; Rosentreter, J. J., Piezoelectric quartz crystal biosensors. *Talanta* **1998**, 46, (6), 1223-1236.
81. Tamarin, O. Etude de capteur à ondes de love pour applications en milieu liquide. Cas de la detection de bacteriophages en temps réel. Université de Bordeaux 1, Bordeaux, 2002.
82. Dejous, C. Capteurs acoustiques à modes de plaque transverses horizontaux. Application à la détection en milieux liquides et gazeux. Bordeaux, 1994.
83. Esteban, I.; Déjous, C.; Rebière, D.; Pistré, J.; Planade, R.; Lipskier, J. F., Mass sensitivity of SH-APM sensors: potentialities for organophosphorous vapors detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2000**, 68, (1-3), 244-248.
84. Moreira, F.; Hakiki, M. E.; Elmazria, O.; Sarry, F.; Le Brizoual, L.; Alnot, P., Theoretical and Experimental Identification of Love Wave Frequency Peaks in Layered Structure ZnO/Quartz SAW Device. *IEEE Sensors* **2008**.
85. Fertier, L.; Cretin, M.; Rolland, M.; Durand, J.-O.; Raehm, L.; Desmet, R.; Melnyk, O.; Zimmermann, C.; Déjous, C.; Rebière, D., Love wave immunosensor for antibody recognition using an innovative semicarbazine surface functionalization. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2009**, 140, (2), 616-622.
86. Sauerbrey, G., Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung. *Zeitschrift für Physik* **1959**, 155, (2), 206-222.
87. Jensen, K.; Kim, K.; Zettl, A., An atomic resolution nanomechanical mass sensor. *Nature Nanotechnology* **2008**, 3, 533-537.
88. Thiruvengathan, P.; Yan, J.; Woodhouse, J.; Aziz, A.; Seshia, A. A., Ultrasensitive mode-localized mass sensor with electrically tunable parametric sensitivity. *Applied Physics Letters* **2010**, 96, 081913.
89. Spletzer, M.; Raman, A.; Wu, A. Q.; Xu, X., Ultrasensitive mass sensing using mode localization in coupled Microcantilevers. *Applied Physics Letters* **2006**, 88, 214102.

90. Thiruvengathan, P.; Yan, J.; Seshia, A. A. In *Topology dependence of mass sensitivities in mode-localized sensors*, European Frequency and Time Forum Conference (EFTF), Noordwijk (Netherlands), 2010; Noordwijk (Netherlands), 2010.
91. Thiruvengathan, P.; Yan, J.; Seshia, A. A., Limits to mode-localized sensing using micro- and nanomechanical resonator arrays. *Journal of Applied Physics* **2011**, 109, 104903.
92. Hjort, K.; Soderkvist, J.; Schweitz, J.-A., Gallium arsenide as a mechanical material. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1994**, 4, (1), 1.
93. Hjort, K., Gallium arsenide micromechanics : a comparison to silicon and quartz. Gallium Arsenide Applications Symposium. GAAS 1994, 28-30 April 1994, Turin, Italy, pp 65.
94. Ovrén, C.; Adolfsson, M.; Hök, B., Fiber-optic systems for temperature and vibration measurements in industrial applications. *Optics and Lasers in Engineering* **1984**, 5, (3), 155-172.
95. Ukita, H.; Uenishi, Y.; Tanaka, H., A Photomicrodynamic System with a Mechanical Resonator Monolithically Integrated with Laser-Diodes on Gallium-Arsenide. *Science* **1993**, 260, (5109), 786-789.
96. Zilionis, S.; Stankevicius, V., AlGaAs semiconductor pressure sensors. *Sensors and Actuators A: Physical* **1991**, 26, (1-3), 295-299.
97. Miao, J.; Hjort, K.; Hartnagel, H.-L.; Schweitz, J.-A.; Ruck, D.; Tinschert, K. In *resonant sensors on thin semi-insulating GaAs membranes*, the 8th International Conference in Solid-State Sensors and Actuators and Eurosensors IX, Stockholm Sweden, 1995, p 604.
98. Glinsner, T.; Luxbacher, T.; Lindner, P.; Schaefer, C.; Michaels, R.; Palensky, J.; Dragoi, V.; Reiche, M., Reversible and Permanent Wafer Bonding for GaAs Processing. *MANTECH, Inc* **2001**.
99. www.EVGroup.com
100. Smith, J. D.; Finlayson, T. R.; Kirchner, C.; Klemradt, U.; Seitz, M.; Sutter, J. P., an application of synchrotron radiation to study the microstructure of passivation layers on GaAs. *Materials forum* **2004**, 27, 21-27.
101. Bin, X.; Sargent, E. H.; Kelley, S. O., Nanostructuring of sensors determines the efficiency of biomolecular capture. *Analytical chemistry* **2010**, 82, (14), 5928-5931.
102. DeJarlid, M.; Shin, J. C.; Chern, W.; Chanda, D.; Balasundaram, K.; Rogers, J. A.; Li, X., Formation of High Aspect Ratio GaAs Nanostructures with Metal-Assisted Chemical Etching. *Nano Letters* **2011**, 11, (12), 5259-5263.
103. Naddaf, M.; Saloum, S., Nanostructuring-induced modification of optical properties of p-GaAs (100). *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures* **2009**, 41, (10), 1784-1788.
104. Ikeda, N.; Sugimoto, Y.; Watanabe, Y.; Ozaki, N.; Takata, Y.; Tanaka, Y.; Inoue, K.; Asakawa, K., Precise control of dry etching for nanometer scale air-hole arrays in two-dimensional GaAs/AlGaAs photonic crystal slabs. *Optics Communications* **2007**, 275, (1), 257-267.
105. Desplats, O. Préparation de surfaces structurées et reprise d'épitaxie par jets moléculaire - Réalisation du micro et nano structures sur GaAs. Université de toulouse, Toulouse, 2008.
106. Wang, Y.; Joyce, H. J.; Gao, Q.; Liao, X.; Tan, H. H.; Zou, J.; Ringer, S. P.; Shan, Z.; Jagadish, C., Self-Healing of Fractured GaAs Nanowires. *Nano Letters* **2012**, 11, (4), 1546-1549.
107. Cahangirov, S.; Ciraci, S., First-principles study of GaAs nanowires. *Physical Review B* **2009**, 79, (16), 165118.
108. Fricke, K., Piezoelectric properties of GaAs for application in stress transducers. *Journal of Applied Physics* **1991**, 70, (2), 914-918.
109. Fricke, K., A micromachined mass-flow sensor with integrated electronics on GaAs. *Sensors and Actuators A: Physical* **1994**, 45, (2), 91-94.
110. Miao, J.; Hartnagel, H. L., High-energy ion implantation: an alternative technology for micromachining three-dimensional GaAs structures. *Sensors and Actuators A: Physical* **2004**, 114, (2-3), 505-509.
111. Zhang, B.; Wang, J.; Xue, C.; Zhang, W.; Xiong, J., A GaAs acoustic sensor with frequency output based on resonant tunneling diodes. *Sensors and Actuators A: Physical* **2007**, 139, (1-2), 42-46.

112. Li, B.; Zhang, W.; Xie, B.; Xue, C.; Xiong, J., Development of a novel GaAs micromachined accelerometer based on resonant tunneling diodes. *Sensors and Actuators A: Physical* **2008**, 143, (2), 230-236.
113. Roland, I.; Masson, S.; Ducloux, O.; Le Traon, O.; Bosseboeuf, A., GaAs-based tuning fork microresonators: A first step towards a GaAs-based coriolis 3-axis Micro-Vibrating Rate Gyro (GaAs 3-axis μ CVG). *Sensors and Actuators A: Physical* 172, (1), 204-211.
114. Dehé, A.; Fricke, K.; Hartnagel, H. L., Infrared thermopile sensor based on AlGaAs/GaAs micromachining. *Sensors and Actuators A: Physical* **1995**, 47, (1-3), 432-436.
115. Dehé, A.; Peerlings, J.; Pfeiffer, J.; Riemenschneider, R.; Vogt, A.; Streubel, K.; Künzel, H.; Meissner, P.; Hartnagel, H. L., III-V Compound semiconductor micromachined actuators for long resonator tunable fabry-pérot detectors. *Sensors and Actuators A: Physical* **1998**, 68, (1-3), 365-371.
116. Casalnuovo, S. A.; Heller, E. J.; Wendt, J. R.; Frye-Mason, G. C.; Baca, A. G. In *Monolithic GaAs surface acoustic wave chemical microsensor array* Microwave Symposium Digest. 2000 IEEE MTT-S International, Boston, MA, 2000; Boston, MA, 2000.
117. Luber, S. M.; Adlkofer, K.; Rant, U.; Ulman, A.; Götzhäuser, A.; Grunze, M.; Schuh, D.; Tanaka, M.; Tornow, M.; Abstreiter, G., Liquid phase sensors based on chemically functionalized GaAs/AlGaAs heterostructures. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures* **2004**, 21, (2-4), 1111-1115.
118. Sandhu, A.; Kumagai, Y.; Lapicki, A.; Sakamoto, S.; Abe, M.; Handa, H., High efficiency Hall effect micro-biosensor platform for detection of magnetically labeled biomolecules. *Biosensors and Bioelectronics* **2007**, 22, (9-10), 2115-2120.
119. Chang, W.-J.; Suk, H.-J.; Newaz, A.; Wallace, K.; Wickline, S.; Solin, S.; Bashir, R., Fluidic measurement of electric field sensitivity of Ti-GaAs Schottky junction gated field effect biosensors. *Biomedical Microdevices* **2010**, 12, (5), 849-854.
120. Duplan, V.; Frost, E.; Dubowski, J. J., A photoluminescence-based quantum semiconductor biosensor for rapid in situ detection of Escherichia coli. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2011**, 160, (1), 46-51.
121. Lee, K.; Nair, P. R.; Alam, M. A.; Janes, D. B.; Wampler, H. P.; Zemlyanov, D. Y.; Ivanisevic, A., Electrical detection of the biological interaction of a charged peptide via gallium arsenide junction-field-effect transistors. *Journal of Applied Physics* **2008**, 103, (11), 114510-7.
122. Hotovy, I.; Rehacek, V.; Mika, F.; Lalinsky, T.; Hascik, S.; Vanko, G.; Drzik, M., Gallium arsenide suspended microheater for MEMS sensor arrays. *Microsystem Technologies* **2008**, 14, (4), 629-635.
123. Tellier, C. R.; Leblois, T. G., On the design of GaAs (hhl) resonant cantilevers: Study of piezoelectric excitation, of piezoresistive sensing and of micromachined structure. *Sensors and Actuators A: Physical* **2006**, 132, (1), 224-235.
124. Heller, E. J.; Hietala, V. M.; Casalnuovo, S. A.; Frye-Mason, G. C.; Klem, J. F.; Drummond, T. J., Development of a GaAs monolithic surface acoustic wave integrated circuit *IEEE Journal of Solid-State Circuits* **1999**, 34, (9), 1254-1258.
125. Hjort, J. S. a. K., The piezoelectric effect of GaAs used for resonators and resonant sensors. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1994**, 4, (1), 28.
126. Hjort, K.; Schweeger, G.; Dehe, A.; Fricke, K.; Hartnagel, H. L., Thickness-field excited thickness-shear resonators in (110) GaAs. *Applied Physics Letters* **1995**, 66, (3), 326-328.
127. Söderkvist, J.; Hjort, K., Flexural vibrations in piezoelectric semi-insulating GaAs. *Sensors and Actuators A: Physical* **1993**, 39, (2), 133-139.
128. Ballato, A.; Lukaszek, T.; Mizan, M.; Kosinski, J. In *Lateral- and Thickness-Field Coupling in Zincblende Structures*, 41st Annual Symposium on Frequency Control. 1987, 1987; 1987; pp 325-352.
129. Soderkvist, J.; Hjort, K., The piezoelectric effect of GaAs used for resonators and resonant sensors. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1994**, 4, (1), 28.
130. Miao, J.; Hartnagel, H. L.; Weiss, B. L., Deep nitrogen implantation for GaAs microstructuring using pulsed electrochemical etching. *Journal of applied physics* **2002**, 92, (5), 2923-2928.

131. Dubowski, J. J.; Voznyy, O.; Marshall, G. M., Molecular self-assembly and passivation of GaAs (001) with alkanethiol monolayers: A view towards bio-functionalization. *Applied Surface Science* **2010**, 256, (19), 5714-5721.
132. McGuinness, C. L.; Diehl, G. A.; Blasini, D.; Smilgies, D.-M.; Zhu, M.; Samarth, N.; Weidner, T.; Ballav, N.; Zharnikov, M.; Allara, D. L., Molecular Self-Assembly at Bare Semiconductor Surfaces: Cooperative Substrate-Molecule Effects in Octadecanethiolate Monolayer Assemblies on GaAs(111), (110), and (100). *ACS Nano* **2010**, 4, (6), 3447-3465.

2 Principe et modélisation du transducteur piézoélectrique d'arséniure de gallium

Introduction

Parmi les différentes techniques de transduction permettant de suivre des interactions biologiques, nous avons vu dans le chapitre précédent que les dispositifs utilisant des ondes acoustiques comme méthode de transduction étaient, du fait de leur grande sensibilité, particulièrement adaptés pour mesurer très précisément une faible variation de masse [¹], et donc de faibles concentrations de molécules d'intérêt. De plus, nous avons vu que ce type de dispositif permettait d'obtenir des informations supplémentaires sur la façon dont sont organisées les protéines greffées à la surface du transducteur [²]. Nous utiliserons ici la modification des propriétés d'onde acoustique de volume comme méthode de détection.

Un dispositif à onde acoustique de volume, appelé BAW, est composé d'un cristal piézoélectrique recouvert de deux électrodes. Ces dispositifs sont très utilisés pour la réalisation d'oscillateurs, de filtres électroniques ou, dans le cas qui nous intéresse, comme capteur [^{3, 4}]. Deux configurations d'électrodes sont utilisées pour générer ces ondes de volumes [⁵] :

- une excitation dans l'épaisseur du matériau, ou TFE : les électrodes sont alors placées de part et d'autre du matériau piézoélectrique et le champ électrique est orienté parallèlement à l'épaisseur de la plaque piézoélectrique (plus petite dimension)
- une excitation latérale, ou LFE: les électrodes sont placées sur la même face du matériau et le champ électrique appliqué est parallèle à une des plus grandes dimensions de la plaque piézoélectrique.

Du fait de la nécessité de travailler en liquide, l' LFE est une architecture bien adaptée pour une application biocapteur car le report des électrodes sur une seule face permet d'isoler la partie fluide et électrique du capteur. De plus, les électrodes n'étant pas dans la zone d'interaction où le déplacement est maximum, le facteur de qualité est plus élevé et la stabilité en fréquence est meilleure [⁶]. Plusieurs types d'ondes peuvent être excités : des ondes de compression, de flexion, de cisaillement d'épaisseur ou de cisaillement de face. L'onde de cisaillement étant moins atténuée en milieu liquide du fait de l'impossibilité de propager ce type d'onde dans ce milieu (à condition que le liquide ne soit pas visqueux), nous utiliserons une onde de cisaillement d'épaisseur (TSM) pour notre capteur.

Les dispositifs BAW utilisant des ondes de cisaillement d'épaisseur les plus répandus sont réalisés à partir de résonateur en quartz coupe AT. Les avantages de cette coupe sont principalement de pouvoir isoler le mode de cisaillement [⁷] et d'être faiblement sensible aux variations de température [^{7, 8}]. Cette faible sensibilité aux conditions environnementales permet d'obtenir une stabilité fréquentielle intéressante que se soit pour des applications dans le domaine du temps fréquence, des filtres électroniques ou des capteurs [³]. Dans ce dernier domaine, du fait qu'ils sont utilisés comme capteurs gravimétriques, ils sont nommés microbalance à quartz (QCM) [⁹]. Ce type de

dispositif est particulièrement adapté pour travailler en liquide [¹⁰⁻¹⁷] et par conséquent pour des applications biocapteur [^{9, 11, 18-20}].

Ces dispositifs utilisent la plupart du temps une excitation d'épaisseur mais il est aussi possible d'utiliser une excitation latérale. Ce type d'architecture, connue depuis de longue date [²¹], n'a été appliqué qu'à partir des années 2000 par Vig et Ballato [^{20, 22}] puis implémenté par Veletino et al [^{23, 24}], Hempel et al. [^{25, 26}] ou Liu et al. [²⁷]. Récemment, ce type de détection a été appliqué sur d'autres matériaux piézoélectriques : le tantalate de lithium (LiTaO_3) [^{28, 29}], le niobate de lithium (LiNbO_3) [^{6, 29}], la langasite ($\text{La}_3\text{Ga}_5\text{SiO}_{14}$) [³⁰] ou le nitrure d'aluminium (AlN) [³¹].

Certainement du fait d'un coefficient de couplage moindre [³²] ou de sa bio toxicité [³³⁻³⁵], l'utilisation de l'arséniure de gallium n'a pas encore été envisagée pour la réalisation d'un biocapteur utilisant des ondes de volume. Les possibilités de réalisation de microstructures dans ce matériau sont cependant sans égale comparativement aux matériaux présentés précédemment [³⁶] et laissent présager la réalisation de capteurs miniatures hautement sensibles et à faible coût. Le problème de sa biotoxicité peut être contourné en passant le substrat d'interfaces chimiques qui, bien que permettant la fixation de biorécepteurs, agissent comme une barrière physique entre les biorécepteurs et la surface. De nombreuses chimies sont adaptées pour la fonctionnalisation directe sur la surface de ce matériau [³⁷⁻³⁹] que nous détaillerons au chapitre 4. Le fait de travailler avec le matériau massif permet aussi d'imaginer des utilisations successives du capteur en régénérant complètement la surface. La structure que nous proposons (cf figure 1.23, § 1.7) est donc pleinement justifiée et se pose comme une solution innovante permettant d'allier sensibilité, bas coût et faciliter d'intégration.

A partir des équations de la piézoélectricité, nous présenterons les caractéristiques du GaAs pour la réalisation de résonateurs à ondes de volume fonctionnant en mode d'épaisseur. Ces équations de propagation nous mèneront à l'établissement du coefficient de couplage permettant de définir la coupe la plus adaptée à notre application. Ensuite, nous étudierons les caractéristiques de notre résonateur et modéliserons son comportement en air. Enfin, nous étudierons le comportement du résonateur vis-à-vis d'un chargement en masse ou du contact avec un liquide sur sa surface sensible.

2.1 Résonateur piézoélectrique en Arséniure de Gallium

2.1.1 Principe

La méthode de détection que nous avons retenue est fondée sur la génération et la détection d'ondes acoustiques de volume dont le principe est présenté dans le chapitre 1, paragraphe 1.4.3.2.

Le matériau retenu, l'arséniure de gallium, est un matériau piézoélectrique. Grâce à cette propriété, l'arséniure de gallium peut être utilisé pour générer (et propager) des ondes acoustiques. Le cristal de GaAs est anisotrope, c'est-à-dire que ses propriétés physiques (mécaniques, électriques, piézoélectriques...) ne sont pas identiques suivant les directions cristallines considérées. Ainsi, la coupe cristalline et l'orientation des électrodes vont déterminer la nature de l'onde, la direction de

propagation désirée, la capacité à convertir l'énergie mécanique en énergie électrique et aussi la dépendance à la température.

2.1.2 Effet piézoélectrique et génération d'une onde acoustique

L'arséniure de gallium utilisé est un semi-isolant III-V constitué de deux types d'atomes (Ga et As) possédant des charges électriques différentes (respectivement III et V électrons de valence). Lorsqu'il n'est pas déformé, à l'équilibre, les charges électriques de chacun des composés se compensent, les atomes d'arsenic chargés négativement (∂^-) partageant des électrons avec les atomes de gallium chargés positivement (∂^+). Lorsque le matériau est déformé, sous l'action d'une contrainte par exemple ou le passage d'une onde dans notre cas, l'équilibre entre les atomes d'électronégativités différentes est rompu et il apparaît un moment dipolaire dans la direction $\langle 111 \rangle$ qui se traduit par la création de charges dans le matériau.

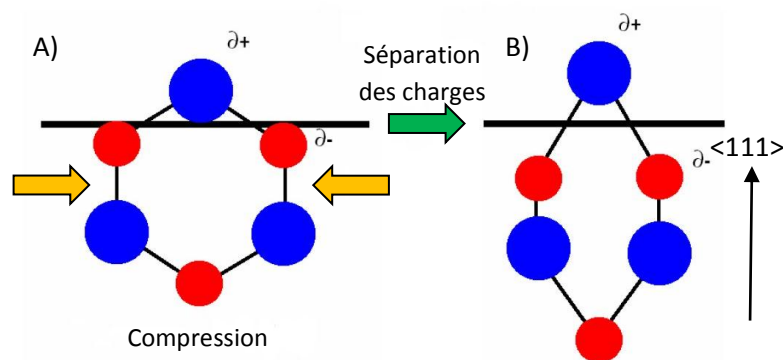


Figure 2.1 - Création de charges électriques dans le GaAs soumis à un effort de compression : A) matériau à l'équilibre et B) matériau déformé sous l'action d'un effort de compression (En bleu, atome de gallium électropositif de charge (∂^+) ; en rouge, atome d'arsenic électronégatif de charge (∂^-).

En appliquant un potentiel électrique différent aux électrodes, on crée une déformation locale du matériau qui va se propager de proche en proche. La progression de cet ébranlement, i.e. la vibration autour du point d'équilibre de la structure, va donc définir l'onde acoustique de forme généralement sinusoïdale et caractérisée par son amplitude U et sa vitesse de propagation V :

$$u(x, t) = U e^{j\omega\left(t - \frac{\vec{n} \cdot \vec{x}}{V}\right)}$$

(2.1)

2.1.3 Propagation d'une onde acoustique

La perturbation évoquée ci-dessus se propage de proche en proche dans le matériau par l'intermédiaire des liaisons inter-atomiques. Le déplacement est donc dépendant de la structure du matériau.

La structure de l'arséniure de gallium est de type zinc blende (de symétrie $\bar{4}3m$). Cette structure cubique est composée de deux sous-structures cubiques faces centrées constituées respectivement des atomes Ga et As, décalées d'un vecteur $(\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4})$, c'est-à-dire un quart de la diagonale du cube. La Figure 2.2 donne une représentation de cette structure.

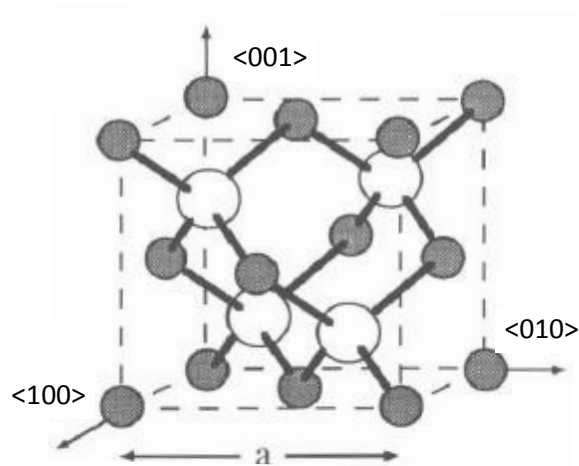


Figure 2.2 - Représentation de la structure de l'Arséniure de Gallium (en gris, atomes de Ga ; en blanc, atome de As) [32]

Remarque : Du fait que ces deux types d'atomes organisés en réseau CFC soient décalés suivant la direction $\langle 111 \rangle$, le nuage d'électron va avoir tendance à basculer vers les atomes d'arsenic ce qui se traduit par la création d'un moment dipolaire suivant cette direction et donc de charges électriques (cf 2.1.2)

Le réseau cristallin va transmettre d'atome en atome des mouvements de compression-dilatation mais aussi des mouvements de cisaillement. Pour un matériau anisotrope, il existe trois types d'onde :

- 1 onde quasi longitudinale (mouvement de compression-dilatation, Figure 2.3 a), le mode a.
- 2 ondes, 1 rapide et 1 lente, quasi transverses (mouvement de cisaillement, Figure 2.3 b), le mode b et c.

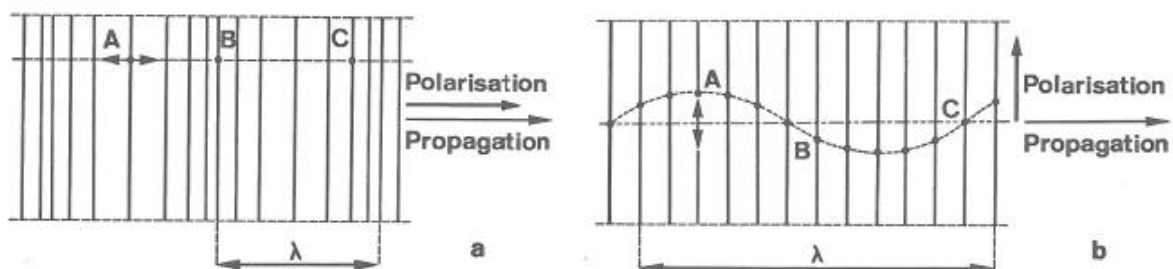


Figure 2.3 – Propagation d'une onde plane dans un matériau isotrope : a) onde longitudinale et b) onde transversale [40].

L'onde est dite quasi longitudinale du fait que, pour un matériau anisotrope, le déplacement des particules et la direction de propagation ne sont pas colinéaires. L'onde est décalée par rapport à la direction de propagation et l'onde quasi longitudinale est l'onde la plus proche de la direction de propagation. Les trois ondes sont toujours perpendiculaires entre elles. En pratique, on choisit généralement des directions de haute symétrie du cristal pour se ramener à une onde de mode pur.

D'un point de vue mécanique, le réseau cristallin au travers duquel se propage l'onde peut être assimilé à un ensemble de systèmes masse (les atomes) – ressort (les liaisons atomiques) dont le déplacement est régi par le principe fondamental de la dynamique. Le matériau peut donc être vu comme un système global masse-ressort auquel il convient d'ajouter l'amortissement dû aux coefficients visqueux du matériau, la masse globale étant représentée par la masse volumique du matériau et le ressort par la matrice de rigidité du matériau. La vitesse de l'onde va donc dépendre de ces deux grandeurs.

La résonance est obtenue lorsqu'une onde stationnaire s'établit entre les deux faces du résonateur. Il faut pour cela que la longueur d'onde soit équivalente à 2 fois l'épaisseur. Il faut donc que la fréquence de résonance soit un multiple impair n de la vitesse de propagation V divisée par 2 fois l'épaisseur de la membrane e_p , soit :

$$f = n \frac{V}{2e_p}$$

(2.2)

Du fait que l'onde se propage grâce à l'élasticité du matériau, c'est-à-dire au déplacement des particules, il existe une fréquence limite à partir de laquelle l'onde ne peut plus se propager car sa longueur d'onde est trop proche de la distance interatomique a . La fréquence de coupure est alors définie par :

$$f_c = \frac{V_0}{\pi a}$$

(2.3)

Pour le GaAs, la distance interatomique est $a=5.56325 \text{ \AA}$ et la vitesse de propagation la plus élevée à 300K est donnée pour le plan (111) à 5397 m.s^{-1} [41]. La fréquence de coupure à cette température est donc de $f_c = 3100 \text{ GHz}$, très éloignée des fréquences que nous allons utiliser. La longueur de l'onde (quelques mm à quelques μm) que nous étudions est donc très grande devant les dimensions interatomiques si bien que pour l'onde le milieu apparaît continu.

2.1.4 Types d'ondes pouvant être générées

La mise en résonance mécanique de la structure est possible grâce à l'utilisation des propriétés piézoélectriques de l'arséniure de gallium semi-isolant et permet la génération d'ondes de volume couvrant une large gamme de fréquence, du Khz à quelques centaines de MHz. Les deux types de configurations d'électrodes (TFE ou LFE) peuvent être utilisés. La génération d'ondes acoustiques de surface est aussi possible dans une gamme de fréquence plus large de 0.01 à 1.5 GHz mais nous n'étudierons pas ce type d'onde dans le cadre de notre étude.

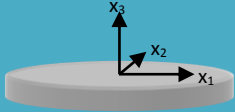
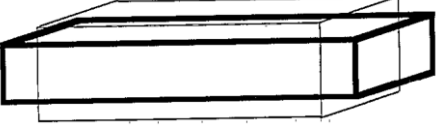

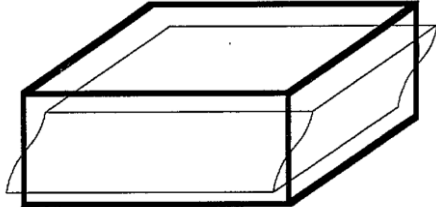
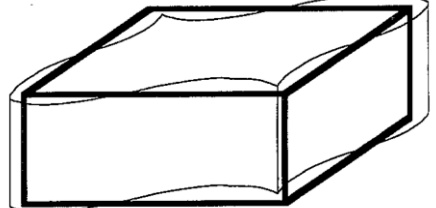
| Mouvement | Géométrie | Excitation | Gamme de fréquence | Déformations principales | | | | | |  |
|--------------------------|-----------|------------|--------------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| | | | | S_1 | S_2 | S_3 | S_4 | S_5 | S_6 | |
| Compression | Poutre | TFE | 150 KHz – 1 MHz | 21,31 | 12,32 | - | - | - | - |  |
| | | LFE | | 1 | 22 | - | - | - | - | |
| | Plaque | TFE | | 31 | 32 | 33 | - | - | - | |
| | | LFE | | 11,21 | 12,22 | 12,23 | - | - | - | |
| Flexion | Poutre | TFE | 10 KHz – 150 KHz | 21,31 | 12,32 | - | - | - | - |  |
| | | LFE | | 11 | 22 | - | - | - | - | |
| | Plaque | TFE | | 31 | 32 | - | - | - | - | |
| | | LFE | | 11,21 | 12,22 | - | - | - | - | |
| Cisaillement d'épaisseur | Plaque | TFE | > MHz | - | - | - | 34 | 35 | - |  |
| | | LFE | | - | - | - | 14,24 | 15,25 | - | |
| Cisaillement des faces | Plaque | TFE | > MHz | - | - | - | - | - | 36 |  |
| | | LFE | | - | - | - | - | - | 16,25 | |

Tableau 2.1 – Différents types de modes pouvant être générés dans l'arséniure de gallium. Les couples d'indices présentés correspondent aux indices de la matrice des coefficients piézoélectriques d_{ik} appropriés pour l'excitation et la détection de différents mouvements en fonction des déformations principales S_x . Nous verrons les correspondances de ces notations dans la prochaine section. L'alignement du champ électrique suivant les plus grandes ou la plus petite dimension(s) est définie par les excitations LFE et TFE respectivement. La composante x'_3 est définie comme normale au wafer [32, 42].

2.1.5 Utilisation de l'effet piézoélectrique du GaAs pour la réalisation de résonateurs ou de capteurs

A notre connaissance, il n'existe pas de publication relatant la réalisation d'un résonateur en arséniure de gallium fonctionnant en mode de cisaillement d'épaisseur. Nous faisons ici un rapide tour d'horizon des publications associées à ces dispositifs GaAs utilisant la piézoélectricité.

Du fait de la grande mobilité des électrons dans ce matériau, le GaAs est plutôt associé à des dispositifs à ondes de surface [43-45] utilisés dans le traitement du signal tel que les filtres ou les lignes à retard. Les publications traitant de résonateur à ondes de volume à base d'Arséniure de gallium sont relativement rares. On peut citer tout de même l'étude de Ballato et al. qui a établi les caractéristiques théoriques de résonateurs GaAs excités latéralement [46]. On peut citer de même les travaux de Hjort et Soderkvist [32, 42, 47-49] qui ont étudié le comportement théorique du matériau pour la réalisation de microdispositifs résonants. Ces études ont abouti à la réalisation d'un diapason vibrant en flexion [42]. Un dispositif similaire est repris par Roland et al. [50] plus récemment dans le cadre de la réalisation d'un gyroscope. D'autres études, utilisant la piézoélectricité du GaAs mais cette fois dans une configuration quasi-statique, ont permis la création de capteurs de pression [51] ou de contraintes [52, 53]. Actuellement, des études sont en cours pour quantifier l'effet piézoélectrique dans des boîtes quantiques [54] ou des nanofils [55].

2.1.6 Démarche

Nous souhaitons réaliser un résonateur à ondes de volume fonctionnant en mode d'épaisseur. Il sera donc nécessaire dans un premier temps de choisir le plan cristallin le plus approprié et d'orienter les électrodes de façon optimale afin d'isoler le mode de cisaillement transverse et d'obtenir un coefficient de couplage maximum.

Pour cela, nous établirons les expressions tensorielles de la piézoélectricité pour ce matériau. Nous écrirons ensuite les équations constitutives de la propagation d'une onde dans un matériau piézoélectrique. A partir de ces équations, et après quelques simplifications dues à la géométrie du transducteur, nous déterminerons les vitesses et les directions de propagation des ondes élastiques pour différentes orientations cristallines (100), (110), (111) et (211) en fonction de l'orientation du champ électrique. Le couple (plan cristallin, direction du champ électrique), permettant d'obtenir un coefficient de couplage maximal et le mode de cisaillement transverse pur, sera fixé et utilisé pour la suite du dimensionnement du transducteur. Toujours analytiquement, nous déterminerons la fréquence de résonance en fonction de l'épaisseur de la membrane et étudierons le schéma équivalent du transducteur. Une analyse par élément fini permettra de valider les précédents résultats et de définir les dimensions et écartement des électrodes. Nous fixerons les dimensions latérales de notre membrane à 4 mm par 3mm afin de conserver une surface d'échange suffisante et de recevoir un volume de l'ordre de quelques microlitres. Notons que ces dimensions sont très importantes devant l'épaisseur, on peut ainsi les considérer comme infinies devant l'épaisseur qui elle est finie pour la modélisation de notre transducteur à onde de volume.

2.2 Expression tensorielle de la piézoélectricité

Les matériaux piézoélectriques couplent à la fois des grandeurs électriques et mécaniques. Du fait de la structure particulière et du comportement anisotrope du matériau, une analyse tensorielle est nécessaire. Elle permet d'exprimer ses différentes caractéristiques physiques (élasticité, permittivité, piézoélectricité) suivant les trois axes cristallographiques (x_1, x_2, x_3).

2.2.1 Considération mécanique

Lors du passage de l'onde, le solide se déforme (extension, cisaillement...) et des contraintes internes apparaissent qui tendent à lui restituer sa forme initiale. Si ces déformations restent inférieures à la limite élastique du matériau, le corps déformé reprend sa forme initiale dès lors que les contraintes internes disparaissent. La loi de Hooke généralisée traduit ce comportement. Les contraintes T_{ij} sont donc liées aux déformations S_{kl} par les constantes de rigidité c_{ijkl} qui sont propres au matériau. Ces constantes de rigidité traduisent le comportement mécanique particulier du matériau suivant la direction cristallographique étudiée. Sous forme tensorielle, on écrit la loi de Hooke :

$$T_{ij} = c_{ijkl} S_{kl}$$

(2.4)

où les composantes du tenseur des déformations S_{kl} s'écrivent $S_{sk} = \frac{1}{2} \left[\frac{\partial u_k}{\partial x_l} + \frac{\partial u_l}{\partial x_k} \right]$ avec u_i le déplacement acoustique selon la direction x_i ($i=1, 2, 3$). De même, la déformation du solide peut être déduite de l'état des contraintes internes par les constantes de souplesse du matériau :

$$S_{ij} = s_{ijkl} T_{kl}$$

(2.5)

Les équations précédentes sont données pour un modèle idéal où, sous des conditions de résonances, les vibrations dans le solide persistent indéfiniment car elles ne sont pas atténuées. Pour prendre en compte l'atténuation des vibrations dans le solide, il faut introduire le comportement viscoélastique du solide dont les composantes sont définies dans la matrice $[\eta]$:

$$[T] = [c][S] + [\eta] \frac{\partial [S]}{\partial t}$$

(2.6)

Par la suite, nous négligerons cet effet viscoélastique pour l'étude du résonateur.

2.2.2 Considération électromagnétique

Lorsque le solide est exposé à un champ et des ondes électromagnétiques, le comportement est décrit par les conditions limites électriques du solide et les équations de Maxwell. Du fait de la grande vitesse des ondes électromagnétiques comparativement aux ondes élastiques dans le solide (10^4 à 10^5 fois supérieure), nous négligerons ces effets. Seul le comportement de semi-isolant de notre matériau nous intéresse. Le comportement électrique du matériau est traduit par ses propriétés diélectriques ε_{ij} qui lient l'induction électrique D_i au champ électrique E_j .

$$D_i = \varepsilon_{ij} E_j$$

(2.7)

où le champ électrique E_j dérive d'un potentiel ϕ :

$$E_j = \frac{-\partial \phi}{\partial x_j}$$

(2.8)

2.2.3 Couplage mécanique-électrique : la piézoélectricité

Les équations précédentes (2.4) et (2.7) présentent respectivement le comportement mécanique et le comportement électrique de la structure séparément. Un solide piézoélectrique couple ces deux phénomènes, il faut donc les prendre en considération simultanément. Des constantes supplémentaires, dites coefficients piézoélectriques e_{ijk} , introduites dans les expressions précédentes, permettent de lier la déformation au champ électrique ou réciproquement. Les équations constitutives d'un matériau piézoélectrique sont donc établies comme suit :

$$\begin{cases} T_{ij} = c_{ijkl}^E S_{kl} - e_{kij} E_k \\ D_j = \varepsilon_{jk}^S E_k + e_{jkl} S_{kl} \end{cases}$$

(2.9)

Les exposants E et S au dessus des coefficients de rigidité et de permittivité indiquent que ces coefficients sont donnés respectivement à champ électrique et déformation constants.

2.2.4 Simplification

2.2.4.1 Notation de Voigt

Dans l'équation précédente, la symétrie des tenseurs permet de simplifier considérablement les notations. En adoptant la notation de Voigt, le tenseur de rang 4 (rigidités) est réduit de 81 à 36 composantes, le tenseur de rang 3 (piézoélectriques) de 27 à 18 composantes et les tenseurs de rang 2 (déformations, contraintes, permittivités) de 9 à 6 composantes. Ces simplifications de notation s'obtiennent en remplaçant respectivement les couples (ij) et (kl) par un indice α et β dont la correspondance est donnée dans le Tableau 2.2 :

| (ij) ou (kl) | (11) | (22) | (33) | (23) | (13) | (12) |
|---------------------|------|------|------|------|------|------|
| α ou β | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

Tableau 2.2 - Tableau de correspondance des indices α ou β et pour les couples d'indice (ij) ou (kl) respectivement

Par exemple, grâce à cette notation, la loi de Hooke (2.4) se ramène au système suivant :

$$\begin{bmatrix} T_1 \\ T_2 \\ T_3 \\ T_4 \\ T_5 \\ T_6 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} c_{11} & c_{12} & c_{13} & c_{14} & c_{15} & c_{16} \\ c_{21} & c_{22} & c_{23} & c_{24} & c_{25} & c_{26} \\ c_{31} & c_{32} & c_{33} & c_{34} & c_{35} & c_{36} \\ c_{41} & c_{42} & c_{43} & c_{44} & c_{45} & c_{46} \\ c_{51} & c_{52} & c_{53} & c_{54} & c_{55} & c_{56} \\ c_{61} & c_{62} & c_{63} & c_{64} & c_{65} & c_{66} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_1 \\ S_2 \\ S_3 \\ S_4 \\ S_5 \\ S_6 \end{bmatrix}$$

(2.10)

2.2.4.2 Symétrie du matériau

Du fait des nombreuses symétries de la structure zinc blende de l'arséniure de gallium (Figure 2.2), les constantes de rigidités, les coefficients piézoélectriques ainsi que les permittivités diélectriques possèdent un grand nombre de valeurs nulles ou égales. Ainsi :

- La matrice des rigidités a uniquement 12 constantes non nulles dont 3 différentes : c_{11} , c_{12} et c_{44} . La matrice des rigidités s'écrit alors dans les axes cristallographiques :

$$[c_{\alpha\beta}] = \begin{bmatrix} c_{11} & c_{12} & c_{12} & 0 & 0 & 0 \\ c_{12} & c_{11} & c_{12} & 0 & 0 & 0 \\ c_{12} & c_{12} & c_{11} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & c_{44} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & c_{44} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & c_{44} \end{bmatrix}$$

(2.11)

avec $c_{11} = 118.8$ GPa, $c_{12} = 53.8$ GPa, $c_{44} = 59.4$ GPa [41, 56].

De même, la matrice des souplesses $s_{\alpha\beta}$ est composée de 3 coefficients non nuls différents : $s_{11} = 11.7.10^{-12}\text{Pa}^{-1}$, $s_{12} = -3.7^{-12}\text{Pa}^{-1}$, $s_{44} = 16.811.7.10^{-12}\text{Pa}^{-1}$.

- La matrice des coefficients piézoélectriques a une seule composante non nulle $e_{14}=-0.16$ C/m² [41, 56], d'où, dans les axes cristallographiques :

$$[e_{i\alpha}] = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & e_{14} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & e_{14} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & e_{14} \end{bmatrix}$$

(2.12)

- la matrice diélectrique a 3 constantes diélectriques identiques non nulles $\varepsilon_{11} = 9.73.10^{-11}$ F.m⁻¹ [41, 56]. Elle est alors de la forme, dans les axes cristallographiques :

$$[\varepsilon] = \begin{bmatrix} \varepsilon_{11} & 0 & 0 \\ 0 & \varepsilon_{11} & 0 \\ 0 & 0 & \varepsilon_{11} \end{bmatrix}$$

(2.13)

Les équations (2.9) peuvent donc être exprimées sous la forme matricielle suivante :

$$\begin{bmatrix} T \\ D \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} c & e^T \\ e & \varepsilon \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S \\ E \end{bmatrix}$$

(2.14)

où la matrice elasto-piézo-diélectrique $\begin{bmatrix} c & e^T \\ e & \varepsilon \end{bmatrix}$ est caractéristique du matériau utilisé, ici pour le GaAs :

$$\begin{bmatrix} T_1 \\ T_2 \\ T_3 \\ T_4 \\ T_5 \\ T_6 \\ D_1 \\ D_2 \\ D_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} c_{11} & c_{12} & c_{12} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ c_{12} & c_{11} & c_{12} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ c_{12} & c_{12} & c_{11} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & c_{44} & 0 & 0 & e_{14} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & c_{44} & 0 & 0 & e_{14} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & c_{44} & 0 & 0 & e_{14} \\ 0 & 0 & 0 & e_{14} & 0 & 0 & \varepsilon_{11} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & e_{14} & 0 & 0 & \varepsilon_{11} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & e_{14} & 0 & 0 & \varepsilon_{11} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_1 \\ S_2 \\ S_3 \\ S_4 \\ S_5 \\ S_6 \\ E_1 \\ E_2 \\ E_3 \end{bmatrix}$$

(2.15)

2.2.5 Influence de l'orientation cristalline

La matrice (2.14) représente le comportement anisotrope élastique, diélectrique et piézoélectrique de l'arséniure de gallium dans un repère particulier appelé repère principal d'anisotropie. Ce repère de base est défini par un repère $R_0 (0, x_1, x_2, x_3)$ dont les axes x_1, x_2, x_3 correspondent respectivement aux directions cristallographiques $\langle 100 \rangle, \langle 010 \rangle$ et $\langle 001 \rangle$. La matrice est donc donnée pour des structures réalisées sur un wafer (100) et alignées dans une direction $\langle 010 \rangle$. Pour une orientation quelconque définie par le repère R_q , il faut calculer les nouveaux coefficients des tenseurs. La matrice de changement de base $[\alpha_{q0}]$ permet de calculer les différents coefficients dans le nouveau repère R_q .

$$R_q = \alpha_{q0} \cdot R_0$$

(2.16)

Le changement d'axe de référence est entièrement déterminé par les neuf coefficients α_{ij} des relations exprimant les nouveaux vecteurs de base x'_i ($i=1,2,3$) en fonction des anciens vecteurs de base x_j ($j=1,2,3$) :

$$x'_i = \alpha_{ij} x_j$$

(2.17)

Trois changements de repère sont nécessaires pour définir toutes les orientations possibles. Nous utiliserons ici les changements de base du standard IEEE [57]. Le passage du repère cristallographique au repère étudié se fait par trois rotations successives d'angles φ, θ et ψ autour des axes $x_3=x'_3, x'_1=x''_1$ et $x''_2=x^*_2$. Les matrices de passage sont donc les suivantes :

- $R_1 (x'_1, x'_2, x'_3) \rightarrow R_0 (x_1, x_2, x_3)$:

$$R_1 = [\alpha_{10}] \cdot R_0 = \begin{bmatrix} \cos \varphi & \sin \varphi & 0 \\ -\sin \varphi & \cos \varphi & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \cdot R_0$$

- $R_2 (x''_1, x''_2, x''_3) \rightarrow R_1 (x'_1, x'_2, x'_3)$:

$$R_2 = [\alpha_{21}].R_1 = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \theta & \sin \theta \\ 0 & -\sin \theta & \cos \theta \end{bmatrix}.R_1$$

- $R_3 (x^*_1, x^*_2, x^*_3) \rightarrow R_2 (x''_1, x''_2, x''_3)$:

$$R_3 = [\alpha_{32}].R_2 = \begin{bmatrix} \cos \psi & 0 & -\sin \psi \\ 0 & 1 & 0 \\ \sin \psi & 0 & \cos \psi \end{bmatrix}.R_2$$

d'où la matrice de passage globale :

$$[\alpha] = \begin{bmatrix} \cos \psi \cos \varphi - \sin \psi \sin \varphi \sin \theta & \cos \psi \sin \varphi + \sin \psi \cos \varphi \sin \theta & -\sin \psi \cos \theta \\ -\sin \varphi \cos \theta & \cos \varphi \cos \theta & \sin \theta \\ \sin \psi \cos \varphi + \cos \psi \sin \varphi \sin \theta & \sin \psi \sin \varphi - \cos \psi \cos \varphi \sin \theta & \cos \psi \cos \theta \end{bmatrix}$$

(2.18)

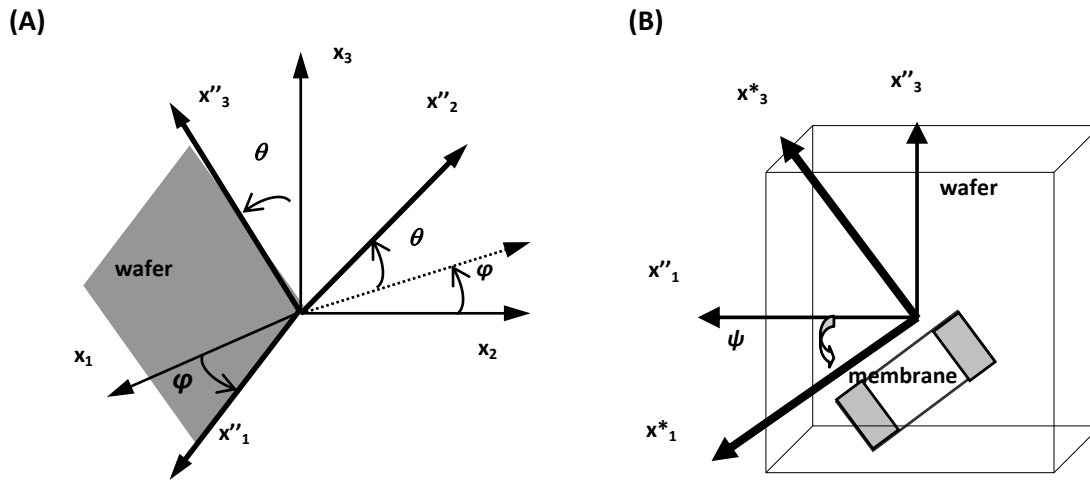


Figure 2.4 - Définition des rotations d'angles φ , θ et ψ permettant de passer du repère associé à la membrane $R_3 (x^*_1, x^*_2, x^*_3)$ au repère de base $R_0 (x_1, x_2, x_3)$: A) orientation du wafer par rapport au repère R_0 et B) orientation de la membrane et des électrodes dans le repère lié au wafer R_2 .

Les deux premières rotations correspondent à l'orientation du wafer choisi, la troisième direction correspond à l'alignement des structures (Figure 2.4). Le tableau suivant nous donne les valeurs des angles (φ , θ) pour quelques orientations de wafers courants :

| wafer | (100) | (110) | (111) | (211) |
|-----------|-------|-------|--------|--------|
| φ | 90° | 45° | 45° | 26.57° |
| θ | 0 | 0° | 35.26° | 24.09° |

Tableau 2.3 – Valeurs des angles ϕ , θ pour quelques orientations de wafers courants

2.3 Coefficient de couplage électromécanique

La propagation d'une onde plane dans un solide piézoélectrique est régie par l'équation de Christoffel. La vitesse et la polarisation des ondes planes s'obtiennent en cherchant les valeurs propres et les vecteurs propres de la matrice de Christoffel. Le coefficient de couplage électromécanique peut alors être calculé pour chaque onde. Nous chercherons ici à déterminer le plan cristallin et l'orientation du champ électrique pour lesquels le coefficient de couplage est maximal et pour lesquels nous obtenons un mode de cisaillement d'épaisseur pur. Nous utiliserons pour cela la méthode de Christoffel-Bechmann étendue^[6, 46, 58, 59].

2.3.1 Equation de propagation

Soit un matériau piézoélectrique défini par les tenseurs (c, e, ϵ, ρ) soumis simultanément à un champ électrique de composante E_k et à des déformations S_{kl} , la contrainte T_{ij} et l'induction électrique D_j s'écrivent :

$$\begin{cases} T_{ij} = c_{ijkl}^E S_{kl} - e_{kij} E_k \\ D_j = \epsilon_{jk}^S E_k + e_{jkl} S_{kl} \end{cases}$$

(2.19)

En posant, d'une part, l'équation fondamentale de la dynamique en l'absence de force extérieure appliquée :

$$\frac{\partial T_{ij}}{\partial x_j} = \rho \frac{\partial^2 u_i}{\partial t^2}$$

(2.20)

avec ρ masse volumique et u_i la polarisation de l'onde

et, d'autre part, l'équation de Poisson pour un matériau isolant :

$$\frac{\partial D_i}{\partial x_j} = 0$$

(2.21)

le système (2.19) devient alors

$$\begin{cases} \frac{\partial(c_{ijkl}^E S_{kl} - e_{kij} E_k)}{\partial x_j} = \rho \frac{\partial^2 u_i}{\partial t^2} \\ \frac{\partial}{\partial x_j} (\varepsilon_{jk}^S E_k + e_{jkl} S_{kl}) = 0 \end{cases}$$

(2.22)

En introduisant les relations $S_{sk} = \frac{\partial u_s}{\partial x_k}$ et $E_k = \frac{-\partial \phi}{\partial x_k}$, on obtient le système aux ondes couplées pour un milieu infini non visqueux anisotrope, isolant et piézo-électrique comme le GaAs semi-isolant :

$$\begin{cases} c_{ijkl}^E \frac{\partial^2 u_l}{\partial x_j \partial x_k} + e_{kij} \frac{\partial^2 \phi}{\partial x_j \partial x_k} = \rho \frac{\partial^2 u_i}{\partial t^2} \\ \varepsilon_{jk}^S \frac{\partial^2 \phi}{\partial x_j \partial x_k} = e_{jkl} \frac{\partial^2 u_l}{\partial x_j \partial x_k} \end{cases}$$

(2.23)

On recherche alors la solution du système précédent correspondant à une onde plane de polarisation U_i se propageant, dans une direction repérée par le vecteur unitaire n_j à la vitesse V :

$$\begin{cases} u_i = U_i F\left(t - \frac{n_j x_j}{V}\right) \\ \phi = \phi_o F\left(t - \frac{n_j x_j}{V}\right) \end{cases}$$

(2.24)

pour un champ électrique longitudinal

$$E_j = \frac{-\partial \phi}{\partial x_j} = \frac{n_j}{V} \phi_o F'$$

(2.25)

Dans les expressions précédentes, F' et F'' sont respectivement les dérivées première et seconde de la fonction F . Le potentiel électrique ainsi que le mouvement des particules sont assimilés à des

oscillations sinusoïdales. Nous pouvons donc exprimer le déplacement et le potentiel électrique sous la forme ^[40] :

$$\begin{cases} u_i = U_i e^{jw(t - \frac{n_j x_j}{V})} \\ \phi = \phi_o e^{jw(t - \frac{n_j x_j}{V})} \end{cases}$$

(2.26)

Le remplacement dans le système (2.23) de

$$\frac{\partial^2 u_i}{\partial x_j \partial x_k} = \frac{n_j n_k}{V^2} U_i F'' \quad , \quad \frac{\partial^2 \phi}{\partial x_j \partial x_k} = \frac{n_j n_k}{V^2} \phi_o F'' \quad \text{et} \quad \frac{\partial^2 u_i}{\partial t^2} = U_i F''$$

(2.27)

conduit au système d'équations :

$$\begin{cases} \Gamma_{il} U_i + \gamma_i \phi_o = \rho V^2 U_i \\ \gamma_i U_i - \varepsilon \phi_o = 0 \end{cases}$$

(2.28)

en définissant les tenseurs Γ_{il} , γ_i , ε par les relations suivantes :

$$\begin{aligned} \Gamma_{il} &= c_{ijkl}^E n_j n_k \\ \gamma_i &= e_{kij} n_j n_k \\ \varepsilon &= \varepsilon_{jk}^S n_j n_k \end{aligned}$$

(2.29)

En éliminant le potentiel dans le système (2.23), on obtient l'équation de propagation d'une onde élastique de vecteur d'onde n dans un matériau piézoélectrique appelé équation de Christoffel :

$$\rho V^2 U_i = \left(\Gamma_{il} + \frac{\gamma_i \gamma_l}{\varepsilon} \right) U_l = \overline{\Gamma}_{il} U_l$$

(2.30)

et donc

$$\overline{\Gamma}_{il} = \Gamma_{il} + \frac{\gamma_i \gamma_l}{\varepsilon}$$

(2.31)

où $\overline{\Gamma}_{il}$ est un tenseur de rang 2 appelé tenseur de Christoffel durci. Il peut aussi s'écrire sous la forme :

$$\overline{\Gamma}_{il} = \bar{c}_{ijkl} n_j n_k$$

(2.32)

En remplaçant dans (2.30) les termes Γ_{il} , γ_i et ε par leurs expressions respectives (2.29), alors :

$$\bar{c}_{ijkl} = \left(c_{ijkl}^E + \frac{e_{pij} n_p e_{qlj} n_q}{\varepsilon_{jk}^S n_j n_k} \right)$$

(2.33)

Les constantes \bar{c}_{ijkl} sont appelées constantes élastiques « durcies ». Ce ne sont pas de vraies constantes élastiques car elles ne sont définies que pour les ondes élastiques planes et elles dépendent de la direction de propagation considérée.

La résolution de l'équation de Christoffel conduit à trois valeurs propres réelles et positives $\bar{\gamma} = \rho V^2$ correspondant aux vitesses de phase des trois ondes. Elles s'obtiennent en résolvant :

$$|\overline{\Gamma}_{il} - \rho V^2 \delta_{il}| = 0$$

(2.34)

Les vecteurs propres correspondant à ces valeurs propres donnent la polarisation des ondes u_i .

2.3.2 Coefficient de couplage

Le coefficient de couplage traduit la faculté du matériau à convertir l'énergie mécanique en énergie électrique et vis versa. Il caractérise le rendement du transducteur et est noté k tel que:

$$k^2 = \frac{\text{énergie transformée}}{\text{énergie fournie}}$$

Du fait de la meilleure conversion de l'énergie pour un transducteur possédant un grand coefficient de couplage, le transducteur sera d'autant plus sensible à de petites modifications de l'onde acoustique et donc le capteur sera d'autant plus sensible. Il faut donc choisir une coupe cristallographique et une orientation de champ électrique particulière afin que le résonateur puisse être excité dans le mode de vibration désiré avec un couplage électromécanique maximum.

Si on considère un élément de volume et une transformation engendrant des petites variations des grandeurs mécaniques et électriques appliquées au matériau piézoélectrique, la variation de l'énergie du matériau piézoélectrique sera la somme des variations des énergies élastique et électrique soit :

$$\delta U = T\delta S + E\delta D$$

(2.35)

L'introduction des relations fondamentales de la piézoélectricité dans l'expression de la variation de l'énergie conduit à la relation suivante :

$$\delta U = Ts^E\delta T + Td\delta E + Ed\delta T + E\varepsilon^T\delta E$$

(2.36)

On intègre ensuite l'expression précédente sur tout le volume pour obtenir la formulation suivante :

$$U = \frac{1}{2}s^ET^2 + 2dTE + \frac{1}{2}\varepsilon^TE^2$$

(2.37)

que l'on peut identifier avec l'équation :

$$U = U_E + 2U_M + U_D$$

(2.38)

avec $U_E = \frac{1}{2} s^E T^2$ l'énergie élastique, $U_M = dTE$ l'énergie mutuelle ou de couplage et $U_D = \frac{1}{2} \varepsilon^T E^2$ l'énergie électrique. Les énergies élastiques U_E et électriques U_D sont respectivement proportionnelles aux souplesses et à la permittivité du matériau alors que l'énergie de couplage U_M dépend des coefficients piézoélectriques. On définit alors le coefficient de couplage électromécanique par :

$$k = \frac{U_M}{\sqrt{U_E U_D}}$$

(2.39)

En remplaçant les valeurs de U_M , U_E et U_D , l'expression du coefficient de couplage k devient :

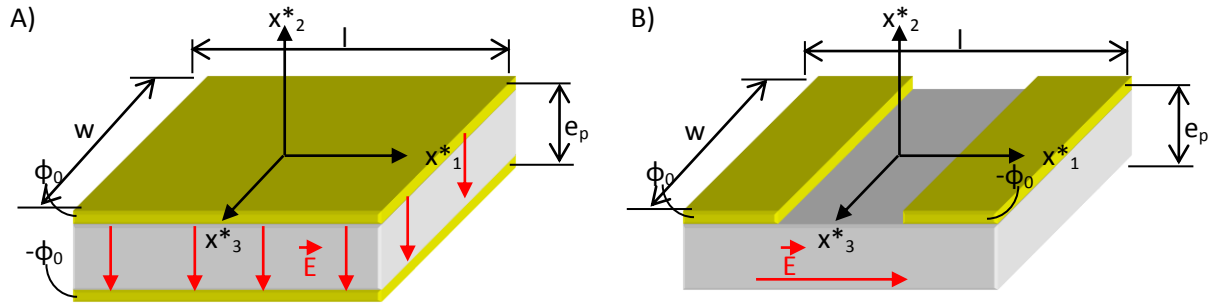
$$k = \frac{d}{\sqrt{\varepsilon^T s^E}}$$

(2.40)

2.3.3 Considération géométrique

La géométrie que nous souhaitons réaliser, reprise dans la figure 1.23 du § 1.7, comprend une membrane résonante dont les dimensions latérales ($l = 4$ mm, $w = 3$ mm) sont très grandes devant l'épaisseur (e_p , quelques dizaines de micromètre). Nous pouvons considérer pour notre modélisation que notre membrane a des dimensions latérales infinies et une épaisseur finie ce qui nous amène à considérer un modèle plaque. La plaque est considérée libre et les effets aux encastres ne sont donc pas pris en compte. On associe un repère cartésien à notre membrane dont la normale à la membrane est associée à la direction x^*_2 , et où les directions x^*_1 et x^*_3 correspondent respectivement à la largeur et la longueur de la membrane.

Dans les expressions suivantes, nous utiliserons le symbole * pour désigner les coefficients ou les dimensions dans le repère tourné, c'est-à-dire celui de la membrane ($0, x^*_1, x^*_2, x^*_3$).



2.3.3.1 Orientation du champ électrique

La détermination du coefficient de couplage pour une excitation latérale est plus complexe du fait du degré de liberté supplémentaire sur l'orientation des électrodes. En effet, pour un mode d'épaisseur, le champ électrique sera toujours colinéaire à l'épaisseur alors que pour une excitation latérale il peut être orienté dans n'importe quelle direction comprise dans le plan (x^*_1, x^*_2) .

- TFE

Le champ électrique est aligné dans la direction x^*_2 (Figure 2.5 A) soit :

$$\vec{E}_{(TFE)} = -grad\phi = - \begin{pmatrix} \frac{\partial \phi}{\partial x^*_1} \\ \frac{\partial \phi}{\partial x^*_2} \\ \frac{\partial \phi}{\partial x^*_3} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ \phi^*_{,2} \\ 0 \end{pmatrix}$$

(2.41)

- LFE

Le champ électrique est orienté dans la direction x^*_1 et variant le long de l'épaisseur de la membrane x^*_2 (Figure 2.5 B) soit :

$$\vec{E}_{(LFE)} = -grad\phi = - \begin{pmatrix} \frac{\partial \phi}{\partial x^*_1} \\ \frac{\partial \phi}{\partial x^*_2} \\ \frac{\partial \phi}{\partial x^*_3} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \phi^*_{,1} \\ \phi^*_{,2} \\ 0 \end{pmatrix}$$

(2.42)

2.3.3.2 Déplacement des particules

Le déplacement de l'onde acoustique de cisaillement dépend donc uniquement de la direction x_2^* , l'onde est alors de la forme $u^*=f(x_2^*, t)$. Le vecteur de déplacement de l'onde s'exprime en fonction de la pulsation ω et de la vitesse d'onde $V^{(m)}$:

$$u_n^* = u_n^{*(m)} e^{j\omega(t - \frac{x_2^*}{V^{(m)}})}$$

(2.43)

Dans l'expression précédente m désigne le mode de l'onde :

- $m=a$, onde quasi longitudinale
- $m=b$, onde quasi transverse rapide
- $m=c$, onde quasi transverse lente

2.3.3.3 Equation de propagation

- TFE

D'après les considérations précédentes, le système (2.23) peut se réduire à :

$$\begin{cases} c_{2jk2}^* \frac{\partial^2 u_k^*}{\partial x_2 \partial x_2} + e_{22j}^* \frac{\partial^2 \phi}{\partial x_2 \partial x_2} = \rho \frac{\partial^2 u_j^*}{\partial t^2} \\ \varepsilon_{22}^* \frac{\partial^2 \phi}{\partial x_2 \partial x_2} = e_{2k2}^* \frac{\partial^2 u_k^*}{\partial x_2 \partial x_2} \end{cases}$$

(2.44)

En éliminant le potentiel dans les expressions précédentes, l'équation de propagation est :

$$\left[c_{2jk2}^* + \frac{e_{22j}^* e_{2k2}^*}{\varepsilon_{22}^*} \right] \frac{\partial^2 u_k^*}{\partial x_2 \partial x_2} = \rho \frac{\partial^2 u_j^*}{\partial t^2}$$

(2.45)

Les vitesses et les directions de propagation s'obtiennent respectivement en cherchant les valeurs et vecteurs propres du système :

$$\left\{ \underbrace{c_{2jk2}^* + \frac{e_{22j}^* e_{2k2}^*}{\varepsilon_{22}^*}}_{=\overline{I_{jk}}} - \rho V^{(m)} \delta_{jk} \right\} u_j^{(m)} = 0 \quad (2.46)$$

Les valeurs propres $\lambda(m) = \rho V^{(m)2}$ sont calculées en annulant le déterminant :

$$|\overline{I_{jk}} - \rho V^{(m)} \delta_{jk}| = 0 \quad (2.47)$$

Puis on détermine les vecteurs propres correspondants $u^{(m)}$.

- LFE

La méthode de calcul est identique dans le cas d'une excitation LFE mais du fait de la différence d'orientation du champ électrique, les équations (2.45), (2.46) et (2.47) deviennent :

$$\begin{cases} c_{2jk2}^* \frac{\partial^2 u_k^*}{\partial x_2 \partial x_2} + e_{12j}^* \frac{\partial^2 \phi}{\partial x_1 \partial x_2} = \rho \frac{\partial^2 u_j^*}{\partial t^2} \\ \varepsilon_{21}^* \frac{\partial^2 \phi}{\partial x_1 \partial x_2} = e_{2k2}^* \frac{\partial^2 u_k^*}{\partial x_2 \partial x_2} \end{cases} \quad (2.48)$$

$$\left[c_{2jk2}^* + \frac{e_{22j}^* e_{2k2}^*}{\varepsilon_{21}^*} \right] \frac{\partial^2 u_k^*}{\partial x_2 \partial x_2} = \rho \frac{\partial^2 u_j^*}{\partial t^2} \quad (2.49)$$

$$\left\{ \underbrace{c_{2jk2}^* + \frac{e_{22j}^* e_{2k2}^*}{\varepsilon_{21}^*}}_{=\overline{I_{jk}}} - \rho V^{(m)} \delta_{jk} \right\} u_j^{(m)} = 0 \quad (2.50)$$

2.3.4 Méthode de calcul

Le coefficient de couplage k est calculé à partir de la méthode de Christoffel-Bechmann [6, 46, 58, 59]. On exprime tout d'abord les tenseurs dans la nouvelle base :

- élastique : $\Gamma_{jk} = c_{ijkl} \alpha_{2i} \alpha_{2l}$

(2.51)

- piézoélectrique : $\Xi_k = e_{ikl} \alpha_{2i} \alpha_{2l}$, $\Xi_j = e_{ikl} \alpha_{2i} \alpha_{2l}$, $\Lambda_k = e_{ikl} \alpha_{2i} \alpha_{2l}$

(2.52)

- diélectrique : $\varepsilon_{11}^* = \varepsilon_{il} \alpha_{1i} \alpha_{1l}$, $\varepsilon_{12}^* = \varepsilon_{il} \alpha_{1i} \alpha_{2l}$ et $\varepsilon_{22}^* = \varepsilon_{il} \alpha_{2i} \alpha_{2l}$

(2.53)

Remarque : Les coefficients α_{ij} représentent les coefficients de la matrice de passage du repère tourné (celui de la membrane) exprimé dans le repère de base.

Nous calculons les coefficients du tenseur de Christoffel durci tels que :

$$\overline{\Gamma}_{jk} = \Gamma_{jk} + \frac{\Xi_k \Xi_j}{\varepsilon_{22}^*}$$

(2.54)

Nous déterminons ensuite les valeurs propres $\lambda_{(m)}$ grâce à l'équation (2.47) et nous en déduisons les vecteurs propres $u^{(m)}$.

Le coefficient de couplage k , défini par l'équation (2.40), est alors déterminé par :

- Pour le TFE

$$k_m(TFE) = \frac{|u_n^{(m)} \varepsilon_n|}{\sqrt{\varepsilon_{22} \lambda_{(m)}}}$$

(2.55)

- Pour le LFE

$$k_m(LFE) = \frac{|u_n^{(m)} \Lambda_n|}{\sqrt{\varepsilon_{11} \lambda_{(m)}}}$$

(2.56)

L'algorithme suivant a donc été implémenté sous matlab pour déterminer le coefficient de couplage :

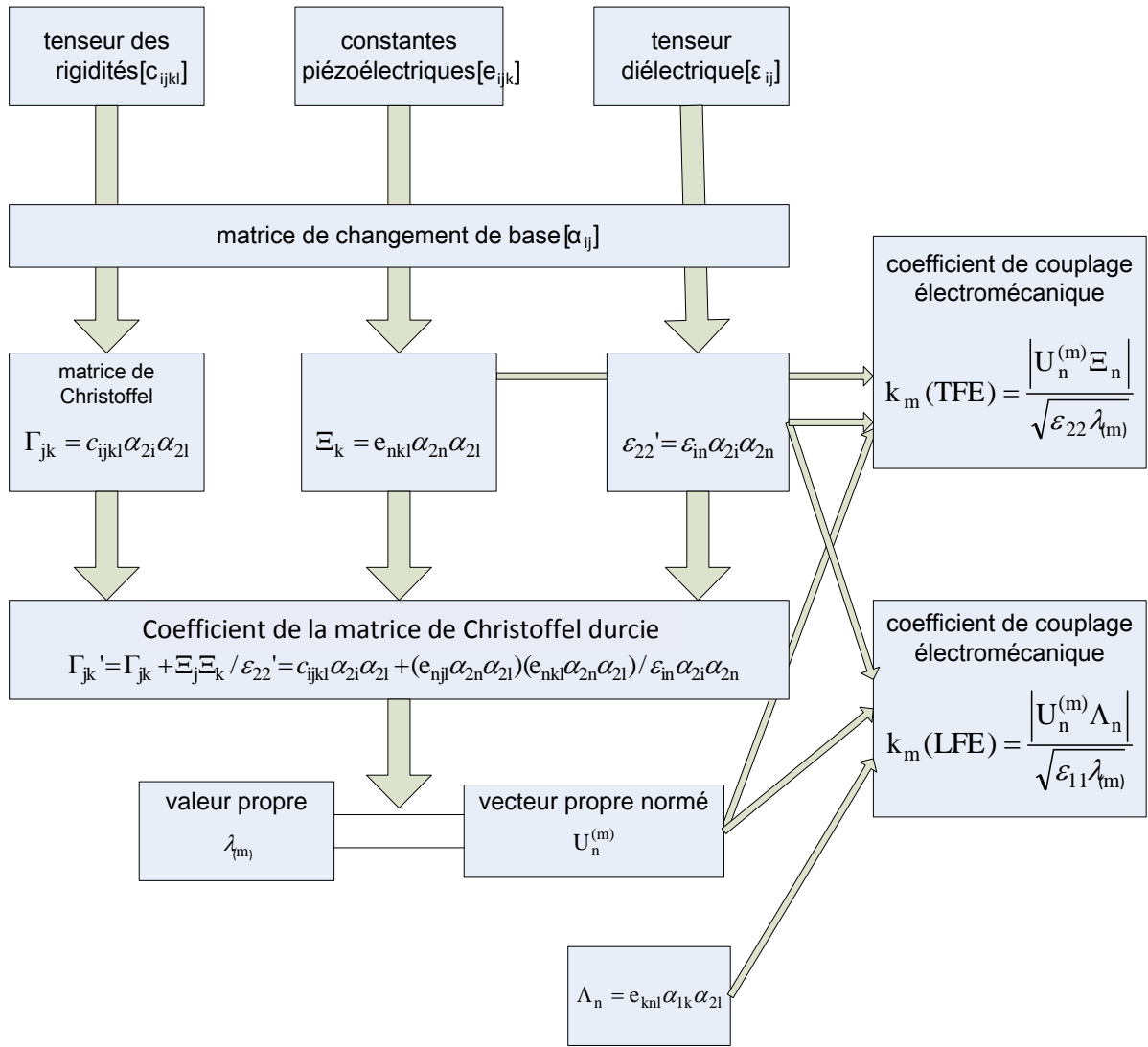


Figure 2.6 - Algorithme permettant de calculer les coefficients de couplage sous matlab

2.3.5 Résultats

Pour une excitation d'épaisseur (TFE), le champ électrique est colinéaire à l'épaisseur de la membrane, il s'ensuit que le coefficient de couplage ne dépend pas de l'angle ψ . Pour une excitation latérale (LFE), la variation du coefficient de couplage pour chaque mode de vibration (longitudinal, transversal lent et rapide) en fonction de l'orientation ψ du champ électrique dans un plan (100), (110), (111) et (211) est présentée respectivement dans les figures 2.7 A, B, C et D.

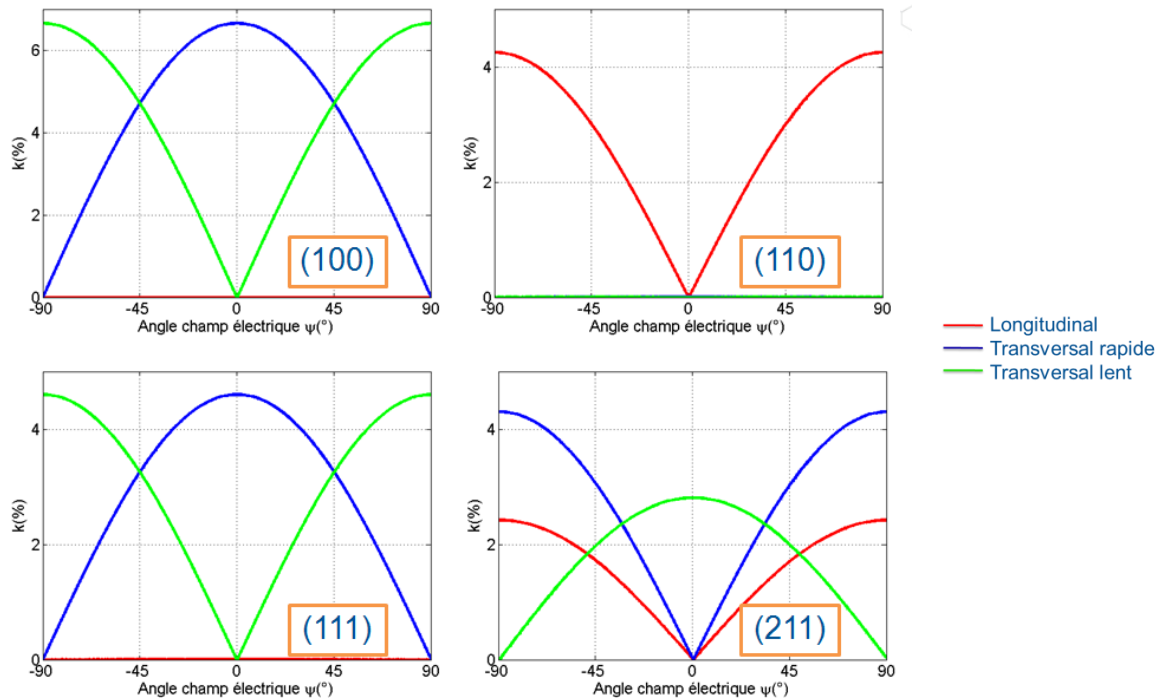


Figure 2.7 –Coefficient de couplage électromécanique k généré par excitation latérale en fonction de l'orientation du champ électrique (ψ) pour les 4 plans cristallins : A) (100), B) (110), C) (111) et D (211). Les trois modes de vibrations sont : en rouge, le mode quasi longitudinal, en bleu, le mode quasi transversal rapide et en vert, le mode quasi transversal lent. Notons que l'angle $\psi=0^\circ$ représente la direction $\langle 011 \rangle$.

D'après ces courbes, nous pouvons faire les commentaires suivant :

- (i) les courbes sont symétriques autour de $\psi=0$, ce qui reflète la symétrie du wafer autour de l'axe $\langle 011 \rangle$.
- (ii) pour l'orientation (211), les trois modes de vibrations sont excités
- (iii) pour l'orientation (110), seule l'onde quasi longitudinale est excitée. Pour une orientation du champ de $\psi=0^\circ$, il n'y a aucune onde générée.
- (iv) les résultats montrent que le coefficient de couplage maximum est obtenu pour un wafer de coupe (100) excité latéralement. Le Tableau 2.4 reprend les coefficients de couplage maximum observés pour chaque coupe, pour chaque type d'onde et avec une excitation latérale ou d'épaisseur.

| | TFE | | | LFE | | |
|-------------|------|------|------|--------------|--------------|--------------|
| | k(a) | k(b) | k(c) | k(a) maximum | k(b) maximum | k(c) maximum |
| Coupe (100) | 0 | 0 | 0 | 0 | 6.66 | 6.66 |
| Coupe (110) | 0 | 6.66 | 0 | 4.25 | 0 | 0 |
| Coupe (111) | 4.76 | 0 | 0 | 0 | 4.6 | 4.6 |
| Coupe (211) | 3.72 | 0 | 3.85 | 2.5 | 4.25 | 2.8 |

Tableau 2.4 – Facteur de couplage (en %) pour une excitation TFE et LFE pour différentes orientations de wafer.

D'après les résultats de la Figure 2.7 et du Tableau 2.4, nous voyons que l'excitation latérale permet d'exciter un mode pur et d'éliminer dans certaines conditions les modes non désirés. Le plus grand coefficient de couplage est obtenu pour les modes transverses rapide ou lent excités par LFE en choisissant habilement l'orientation du champ électrique ψ sur un wafer de coupe (100). La même valeur maximale est obtenue par TFE sur une coupe (110) avec un mode transverse rapide. Des résultats proches ont été montrés par Hjort et al. [32] ainsi que par Ballato et al. [60] qui déterminent un coefficient de couplage de 6.1 % pour une structure en cisaillement d'épaisseur excitée latéralement dans une coupe (100) [32, 60] ou par TFE sur une coupe (110) [48]. Un coefficient de couplage de 4.3% a été aussi obtenu par Söderkvist et al. [49] pour une poutre en flexion réalisée dans une coupe (110) et excitée par TFE.

Pour conclure cette partie, la coupe (100) permet d'isoler un mode de cisaillement transverse rapide ou lent par LFE et permet d'obtenir le meilleur coefficient de couplage et donc d'être plus sensible à la détection de *stimuli* extérieurs. Bien que ce couplage soit identique pour une coupe (110) excitée par TFE, nous avons expliqué précédemment que, du fait de l'absence d'électrodes sur la partie sensible du capteur, le LFE était mieux adapté pour une application biocapteur.

Pour notre transducteur, afin d'obtenir la plus grande sensibilité, nous opterons pour une coupe (100) et nous orienterons le champ électrique dans la direction $\langle 011 \rangle$ ou $\langle 01\bar{1} \rangle$. Les modes générés seront alors les modes de cisaillement transverse rapide ou lent respectivement. L'amplitude et la vitesse de déplacement des particules pour ces deux modes sont identiques du fait de la symétrie du matériau (structure cubique).

2.4 Fréquence de résonance du résonateur

Maintenant que nous connaissons la coupe et l'orientation du champ électrique les plus adéquates, nous allons déterminer la fréquence de résonance du résonateur.

Pour un dispositif utilisant des modes de cisaillement d'épaisseur (TSM), le déplacement est maximum au niveau des électrodes et l'onde se propage perpendiculairement à la membrane (Figure 2.8).

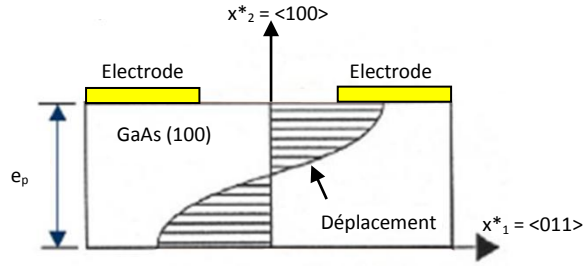


Figure 2.8 – Déplacement des particules dans l'épaisseur de la plaque pour une onde de cisaillement à la fréquence de résonance du rang fondamental ($n=1$)

La fréquence pour laquelle s'établit une onde stationnaire est (cf §2.1.3) :

$$f_{(b)} = n \frac{V_{(b)}}{2e_p}$$

(2.57)

où n , $V_{(b)}$ et e_p sont respectivement un nombre entier positif (appelé rang de partiel), la vitesse de l'onde acoustique quasi transverse (mode b) et l'épaisseur du substrat piézoélectrique. Pour $n=1$, la structure résonne à sa fréquence de résonance fondamentale représentée Figure 2.8. La vitesse de l'onde acoustique quasi transverse a été déterminée sous matlab lors du calcul des coefficients de couplage. La valeur propre $\lambda_{(b)}$ de la matrice de Christoffel durcie équivaut, pour le plan (100) et dans les conditions établies précédemment à ^[40, 61] :

$$V_{(b)} = \sqrt{\frac{\lambda_{(b)}}{\rho}} \text{ avec } \lambda_{(b)} \approx \bar{c}_{44} = c_{44} + \frac{e_{24}^2}{\varepsilon_{22}}$$

(2.58)

$$\text{avec } c_{44} = 59,4 \text{ GPa et } \rho = 5317 \text{ kg.m}^{-3} \text{ à } 300^\circ\text{K} \text{ }^{[41]}$$

En remplaçant la valeur de $V_{(b)} = 3342 \text{ m.s}^{-1}$ dans la formule (2.57), la fréquence précédente est déterminée par :

$$f_{(b)} = n \frac{1671}{e_p}$$

(2.59)

Cette valeur est identique à celle trouvée par Söderkvist et al [42].

Comme le déplacement est maximum au niveau des électrodes, nous pouvons faire les remarques suivantes :

- Un ventre de l'onde est défini sur cette surface. De ce fait, pour que l'onde stationnaire puisse s'établir, il faut que la face opposée contienne aussi un ventre et donc que l'épaisseur soit équivalente à un multiple d'une demi-longueur de l'onde acoustique, d'où l'expression (2.57).
- le plan médian de la membrane contient un nœud de vibration.
- Seuls les rangs impairs peuvent être activés. En effet, les rangs pairs contiennent un nœud de vibration sur la surface contenant les électrodes et ne peuvent par conséquent être activés.

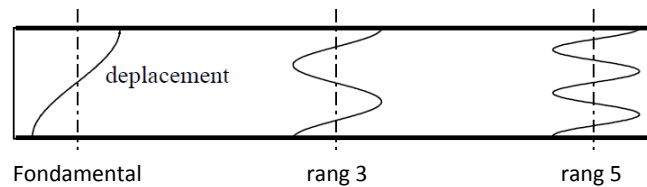


Figure 2.9 - Déplacement dans l'épaisseur de la membrane pour les trois premiers rangs de partiel du mode de cisaillement d'épaisseur.

Pour un résonateur, il existe deux fréquences de résonance : la fréquence de résonance série, appelée fréquence de résonance f_r , et la fréquence de résonance parallèle, appelée anti-résonance f_a . Elles correspondent respectivement au minimum et maximum d'impédance du système ou encore au maximum et minimum d'admittance. Nous détaillerons ces notions dans la section 2.5.

L'expression (2.47) correspond à la fréquence d'antirésonance $f_{a(b)}$. L'expression de la fréquence de résonance est la suivante :

$$f_{r(m)} = \frac{2f_{a(m)}}{\pi} X^{(m)} = \frac{nV_{(m)}}{\pi e_p} X^{(m)}$$

(2.60)

où $n=1,3,5...$ est le rang de partiel considéré ; $X^{(m)}$ peut se calculer par

$$\sum_m \left[k_m^2 \frac{\tan X^{(m)}}{X^{(m)}} \right] = 1$$

(2.61)

On trace alors les deux courbes $\tan X$ et $\frac{X}{k_m^2}$ et on cherche les points d'intersection, solutions de l'équation (2.61), avec $k_{\max} = 6.66\%$ (mode b, électrode orientée dans la direction $\langle 110 \rangle$, cf § **Erreur ! source du renvoi introuvable.**) :

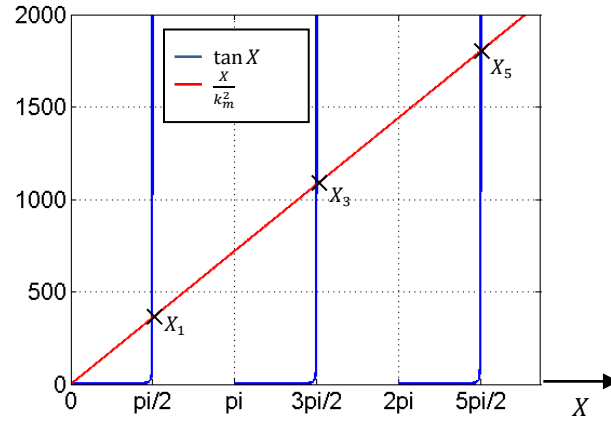


Figure 2.10 – Méthode graphique de détermination des valeurs de X pour le rang de partiel 1, 3, 5

Les solutions de (2.61) pour le mode b sont : $X_1^{(b)} = 1.5677, X_2^{(b)} = 4.7115, X_3^{(b)} = 7.8534$

La fréquence de résonance fondamentale (n=1) est alors

$$f_{r(b)} = \frac{V_{(b)}}{\pi e_p} 1.5677 = \frac{1668}{e_p}$$

(2.62)

Nous voyons que les expressions de la fréquence de résonance et d'antirésonance sont très proches, ce qui s'explique par le faible coefficient de couplage du GaAs. Notons que le coefficient de couplage peut s'exprimer aussi en fonction des fréquences de résonance et d'antirésonance :

$$k_m^2 = \frac{\pi^2}{4} \frac{f_{a(m)} - f_{r(m)}}{f_{a(m)}}$$

(2.63)

La courbe Figure 2.11 donne la fréquence de résonance du mode fondamental en fonction de l'épaisseur de la membrane sur une étendue de 30 à 70 μm .

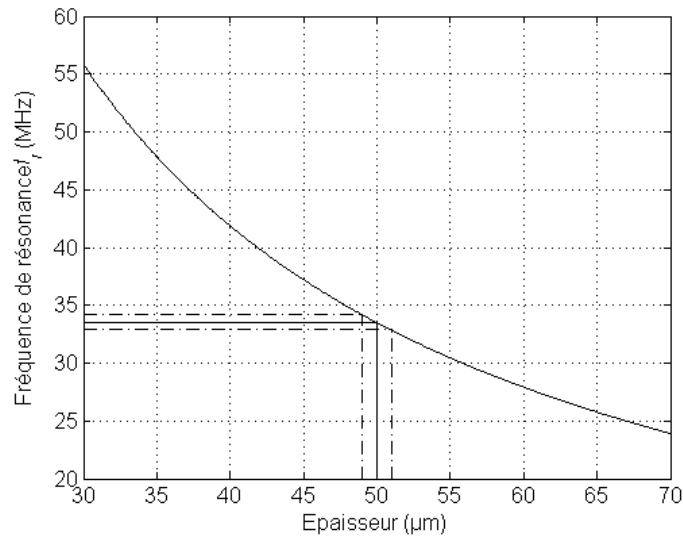


Figure 2.11 - Variation de la fréquence de résonance f_r en fonction de l'épaisseur de la membrane. Une fréquence de 33.53 ± 0.65 MHz est obtenue pour une épaisseur de 50 ± 1 μm .

En faisant le choix d'une épaisseur de membrane de 50 μm avec une incertitude de ± 1 μm , les fréquences de résonance correspondantes sont $f_{r1} = 33.37 \pm 0.67$ MHz pour obtenir le mode de cisaillement fondamental, à $f_{r3} = 100.12 \pm 2$ MHz pour obtenir l'harmonique 3 et $f_{r5} = 166.87 \pm 3.34$ MHz pour l'harmonique 5.

2.5 Modélisation du résonateur non chargé à onde de volume

2.5.1 Choix du modèle utilisé

Pour modéliser le comportement d'un résonateur à ondes acoustiques, deux approches peuvent être utilisées :

- Le comportement du dispositif peut se rapporter à un problème à une dimension en réalisant des approximations appropriées. On parle d'approche une dimension (1D).
- Le comportement du dispositif ne peut pas être approché par un problème à une dimension, il est donc nécessaire d'étudier le comportement suivant deux ou trois dimensions (2D ou 3D).

L'approche 1D permet une étude simplifiée du fonctionnement du résonateur et ne tient pas compte de certains phénomènes observés expérimentalement. Elle permet cependant de modéliser simplement le comportement du dispositif et permet d'estimer assez précisément la réponse du dispositif. Pour cela, nous disposons de deux modèles : le modèle de Mason et le Modèle de Butterworth Van Dyke (BVD). Ces modèles utilisent tout deux des schémas électriques équivalents faisant appel aux équations de la piézoélectricité. Ils se basent sur la théorie des lignes de transmission et des impédances acoustiques. Ainsi, des équations de la piézoélectricité nous pouvons déduire le comportement d'une plaque piézoélectrique par son impédance caractéristique ^[40] :

$$Z = \frac{1}{jC_0\omega} \left[1 - k_m^2 \frac{\tan\left(\frac{\omega e_p}{2V}\right)}{\frac{\omega e_p}{2V}} \right]$$

(2.64)

Cette impédance devient nulle aux fréquences de résonance et infinie aux fréquences d'antirésonance (Figure 2.12), l'admittance étant respectivement infinie et nulle aux fréquences énoncées précédemment. Nous verrons qu'en réalité ces dimensions ont une valeur finie du fait des pertes (viscoélasticité, fixation, ...).

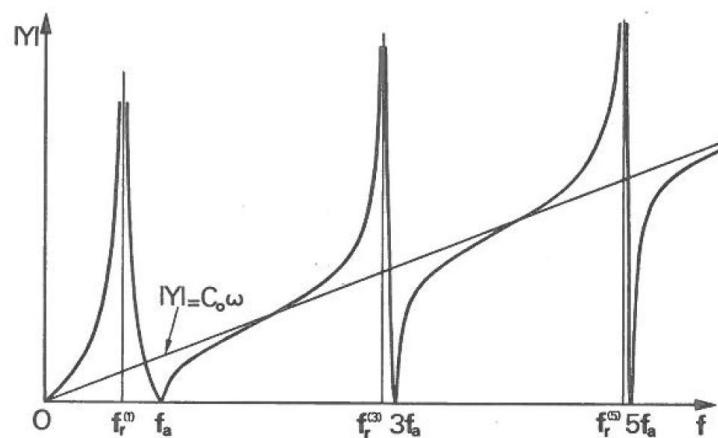


Figure 2.12 - Variation du module de l'admittance d'un résonateur piézoélectrique en fonction de la fréquence. La droite $|Y| = iC_0\omega$ représente l'admittance de la capacité statique C_0 ^[40].

Les approches 2D et 3D sont, quant à elles, beaucoup plus complexes mais aussi plus complètes et permettent l'observation de phénomènes négligés par l'approche 1D. Elles doivent être utilisées dès lors que les dimensions latérales du résonateur sont inférieures à quelques dizaines de fois son épaisseur. Ce sont alors des méthodes par éléments finis qui sont communément utilisées.

2.5.2 Le modèle électromécanique : le modèle de Mason

Le modèle de Mason est couramment utilisé pour les résonateurs à ondes de volume et permet notamment d'étudier le comportement d'un résonateur multi-couche (film piézoélectrique, électrodes, membranes, substrat) en associant à chaque couche un schéma électrique.

La plaque piézoélectrique est décrite par :

- Son comportement mécanique via deux entrées acoustiques correspondant aux surfaces extérieures supérieure et inférieure. Elles sont modélisées par deux lignes de transmission de longueur égale à une demi-épaisseur de la plaque ($\frac{e_p}{2}$) et d'impédance mécanique caractéristique $Z=A*\rho*V$, qui dépend de l'impédance caractéristique du matériau $Z_0=\rho*V$ et de la géométrie (aire de la surface A). Ces lignes de transmission d'impédance caractéristique lient les efforts appliqués (F_i) aux vitesses de déplacement des particules (\dot{u}_i) de chacune des faces i .
- Son comportement électrique : le matériau diélectrique sépare deux électrodes auxquelles on applique une différence de potentiel. Le condensateur ainsi formé a une impédance électrique Z_e spécifique à la nature du matériau et aux dimensions du dispositif. L'impédance électrique lie l'intensité électrique I à la tension U appliquée aux bornes du diélectrique.
- Son couplage électromécanique : Les comportements mécanique et électrique de la structure ne sont pas indépendants mais liés par les propriétés piézoélectriques de la structure. Cette interdépendance est modélisée sous le formalisme de Mason par un convertisseur électromécanique. Du fait de cette liaison, il est possible de visualiser sur l'entrée électrique des modifications des entrées acoustiques.

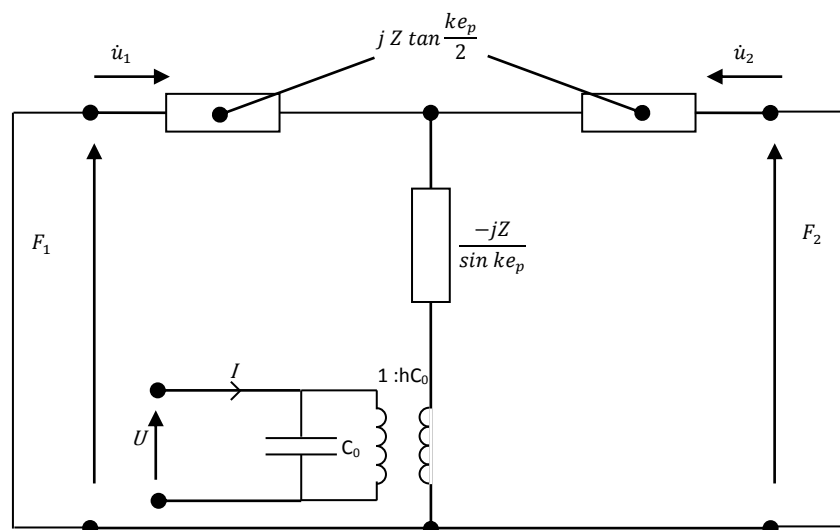


Figure 2.13 – Représentation de Mason d'un résonateur en mode d'épaisseur excité latéralement [61]

Ce modèle permet l'étude de résonateurs multicouches dans une large bande de fréquence y compris hors des fréquences de résonance est plus complexe à modéliser. Notre résonateur à ondes de volume est constitué d'une seule couche de matériau piézoélectrique et l'étendue fréquentielle autour de la résonance est suffisante. Nous utiliserons donc un modèle de Butterworth-Van Dyke.

2.5.3 Le modèle électrique : le modèle de Butterworth-Van Dyke (BVD)

Le modèle de Butterworth-Van Dyke est un modèle simple n'exploitant qu'un seul port électrique. Il est valable uniquement autour des fréquences de résonance. Une version améliorée de ce modèle, appelé MBVD pour Modified Butterworth Van Dyke, a également été développée afin de prendre en compte l'influence des résistances d'accès au résonateur. Nous n'utiliserons cependant ici que le modèle BVD, suffisant dans un premier temps pour montrer la fonctionnalité de notre dispositif.

Le modèle BVD utilise uniquement des éléments électriques pour décrire le comportement électroacoustique de la structure. Comme l'illustre la Figure 2.14, ce modèle est composé de deux branches en parallèle : une branche statique correspondant au comportement électrique de la structure et une branche dynamique, dite motionnelle, correspondant au comportement mécanique de la structure autour de la résonance.

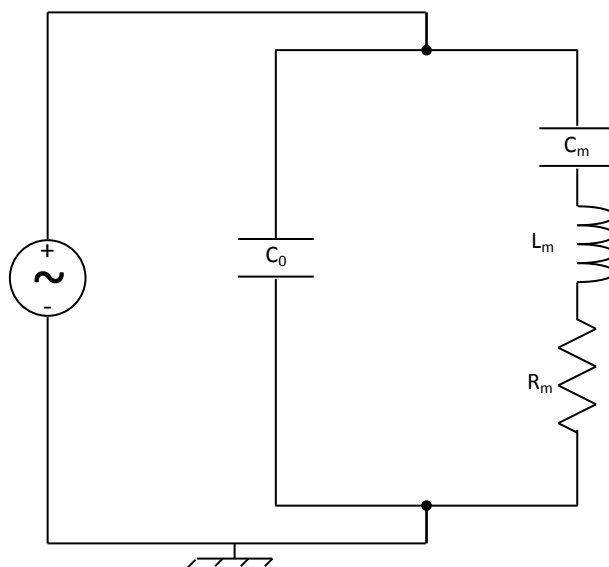


Figure 2.14 – Circuit équivalent de Butterworth van Dyke du résonateur à vide

2.5.3.1 La branche statique

Cette branche matérialise le comportement électrique de la structure. Comme l'illustre la Figure 2.5 B, la structure peut être modélisée d'un point de vue électrique par une capacité du fait que l'on applique une différence de potentiel aux bornes d'électrodes séparées par un diélectrique. La valeur de la capacité formée dépend à la fois de la permittivité du matériau ϵ dans la direction choisie (comportement anisotrope du matériau), du diamètre des électrodes d_e , de l'épaisseur de la plaque

e_p ainsi que de l'écartement des électrodes g . Dans la configuration présentée Figure 2.5 B, l'expression de la capacité statique est la suivante :

$$C_0 = \frac{\varepsilon_{11} d_e e_p}{g}$$

(2.65)

La Figure 2.15 A montre l'évolution de la capacité statique C_0 en fonction de la distance entre les électrodes sur une plage [0.1mm, 1.2mm]. Comme attendu, la capacité statique C_0 diminue lorsque l'écartement entre les électrodes augmente. La courbe présentant l'amplitude de l'admittance du circuit équivalent en fonction de l'écartement des électrodes (Figure 2.15 B) suit la même évolution car, hors de la fréquence de résonance, le circuit équivalent peut être approximé par le comportement de la capacité statique.

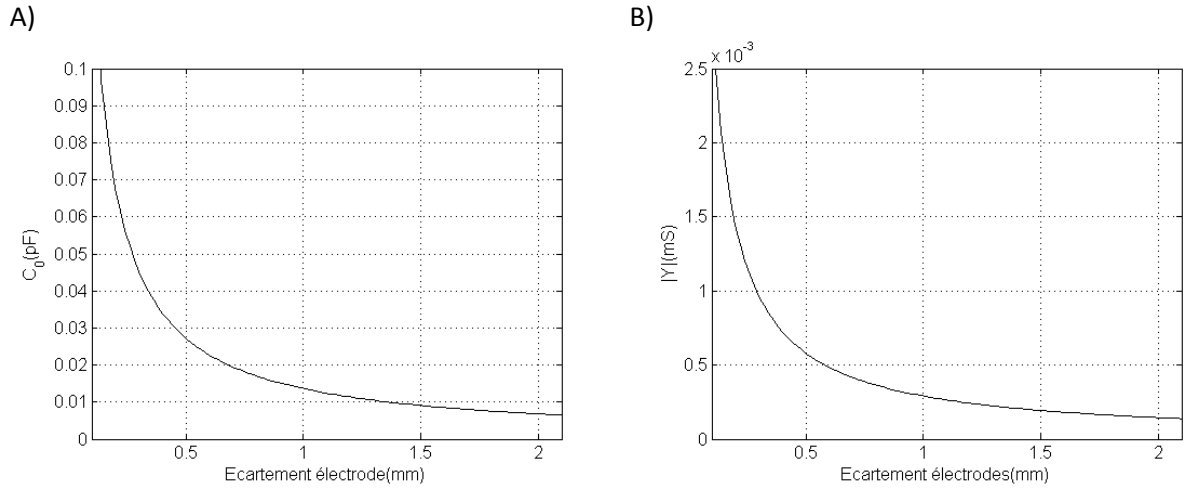


Figure 2.15 – Valeur de la capacité statique et de l'admittance en fonction de l'écartement des électrodes ($e_p=50\mu\text{m}$, $d_e=2.8\text{mm}$).

2.5.3.2 La branche motionnelle

La branche motionnelle correspond à la partie acoustique du résonateur. Le modèle mécanique d'un résonateur, un système masse-ressort-amortisseur (Figure 2.16 A), est ici associé par analogie à un schéma électrique équivalent bobine-capacité-résistance (Figure 2.16 B).

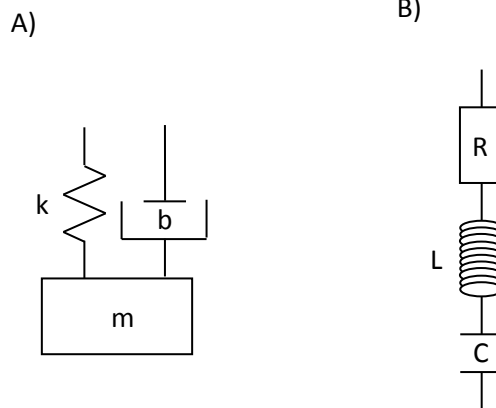


Figure 2.16 - Modélisation équivalente d'un oscillateur suivant un modèle mécanique (A) ou électrique (B).

Le système vibrant est donc associé à un circuit résonant d'impédance électrique équivalente Z_m . La capacité motionnelle C_m et l'inductance motionnelle L_m sont reliées à l'élasticité du matériau et définissent la fréquence de résonance du système. Les expressions de ces deux composants, dans la configuration Figure 2.5 B, sont données par :

$$C_m = \frac{8k_m^2 C_0}{(n\pi)^2}$$

$$L_m = \frac{1}{(2\pi f_r)^2 C_m}$$

(2.66)

La résistance motionnelle R_m inclue l'ensemble des pertes mécaniques du transducteur liées à la viscosité dynamique du matériau, aux effets de bords lors de sa fixation ainsi qu'à la qualité des contacts électriques. Expérimentalement, cette grandeur peut varier de manière importante. Plus elle sera faible, plus la sensibilité du capteur sera élevée. Son expression théorique est, dans la configuration considérée (membrane (100), électrodes orientées <110>) :

$$R_m = \frac{\pi^2 \eta g}{8k_m^2 \rho V^2 \varepsilon_{11} e_p w}$$

(2.67)

où w est la largeur de la plaque considérée et η le facteur viscoélastique du matériau.

Notons ici que les équations (2.66) et (2.67) s'obtiennent :

- 1) en faisant l'approximation que nous sommes proches des fréquences de résonance, avec :

$$f \approx n \frac{V_b}{2e_p}$$

- 2) en substituant cette approximation dans l'équation (2.64)
- 3) en développant l'équation ainsi formée en $Z = A + j\omega B + \frac{1}{j\omega} C$
- 4) en identifiant les termes A, B, et C obtenus avec les composants de l'impédance équivalente à la branche motionnelle $Z = R_m + j\omega L_m + \frac{1}{j\omega C_m}$ [15, 16]

2.5.3.3 Comportement

Le modèle BVD illustré Figure 2.14 permet une représentation du résonateur autour de ces deux fréquences fondamentales :

- la fréquence de résonance série, la résonance f_r induite par la branche motionnelle :

$$f_r = \frac{1}{2\pi \sqrt{L_m C_m}}$$

(2.68)

- la fréquence de résonance parallèle, l'antirésonance f_a induite par la branche motionnelle et la capacité statique :

$$f_a = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{1}{L_m C_m} \left(1 + \frac{C_m}{C_0}\right)}$$

(2.69)

Les harmoniques d'ordres supérieurs peuvent être également prédits en complétant le circuit précédent par des branches séries (L_m , R_m , C_m) montées en parallèle. Les fréquences de résonance et d'antirésonance correspondent respectivement au minimum et au maximum de l'amplitude de l'impédance. La résonance et l'antirésonance forment donc deux pics caractéristiques sur le tracé d'impédance (Figure 2.17 A) ou d'inductance. A ces deux pics, on associe les facteurs de qualité respectifs Q_r et Q_a , qui sont inversement proportionnels à R_m et qui définissent la sélectivité fréquentielle du dispositif.

$$\begin{cases} Q_r = \frac{\omega_r L_m}{R_m} \\ Q_a = \frac{\omega_a L_m}{R_m} \end{cases}$$

(2.70)

où ω_r et ω_a sont les pulsations associées aux fréquences de résonance et d'antirésonance.

Sur le tracé de phase (Figure 2.17 B), le comportement initial essentiellement capacitif (C_m , déphasage de -90°) passe progressivement vers un comportement inductif (L_m , déphasage de $+90^\circ$) après la fréquence de résonance. A la fréquence de résonance, l'impédance est alors minimale et égale à $Z_{min} = R_m$. A la fréquence d'antirésonance, l'impédance est alors maximale et vaut

$$Z_{max} = \frac{1}{2\pi C_0 f_a} \sqrt{1 + Q_r^2 \left(\frac{f_a}{f_r} - \frac{f_r}{f_a} \right)^2} \quad [62].$$

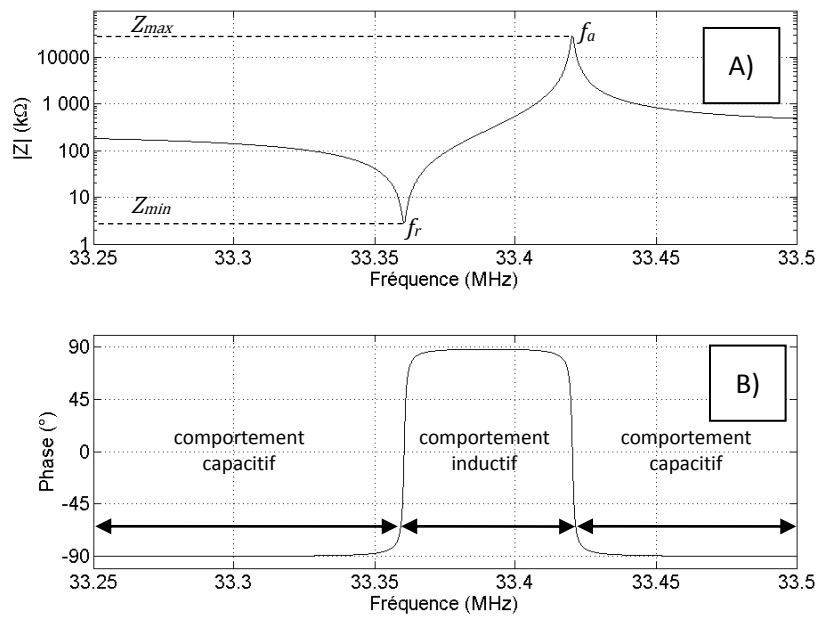


Figure 2.17 – Simulation du comportement du résonateur constitué d'une membrane de GaAs de 50 μm d'épaisseur : A) tracé du module de l'impédance, B) tracé de la phase de l'impédance.

Les amplitudes et par conséquent le coefficient de qualité sont fortement dépendants du coefficient viscoélastique du matériau. Malgré nos recherches bibliographiques, nous n'avons pas pu obtenir le coefficient viscoélastique du GaAs. Comme première approximation, nous l'avons estimé à $10^{-2} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (coefficient viscoélastique du quartz $\eta_q = 3.5 \cdot 10^{-2} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$ [16]) et déterminé ainsi la valeur de $1/R_m$, i.e. l'amplitude de l'admittance à la fréquence de résonance (Figure 2.18 A). Le coefficient de qualité calculé est environ 25600 et l'amplitude de l'admittance environ $3,6 \cdot 10^{-4} \text{ S}$ avec ce coefficient viscoélastique. Les Figure 2.18 B et C montrent l'évolution du facteur de qualité ainsi que de l'amplitude de l'admittance en faisant varier le coefficient viscoélastique sur une plage comprise entre $1 \cdot 10^{-2}$ et $1 \cdot 10^{-1}$.

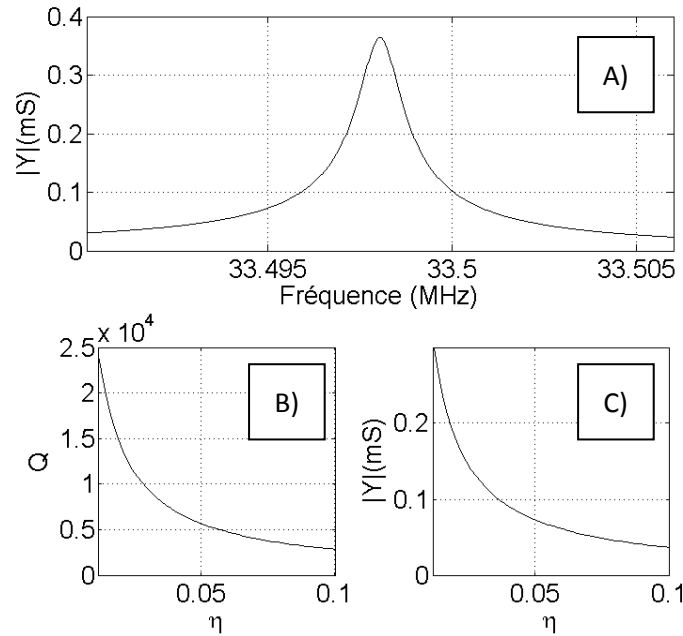


Figure 2.18 – A) Evolution du module de l’admittance autour de la fréquence de résonance $f_r=33.424\text{MHz}$; B) évolution du facteur de qualité et C) de l’amplitude de l’admittance en fonction du coefficient viscoélastique η . ($e_p=50\mu\text{m}$, $g=0.8\text{mm}$).

2.5.4 Analyse par éléments finis

Nous avons présenté dans la modélisation analytique les facteurs d’influence de notre résonateur mais le dimensionnement des électrodes ainsi que de l’écartement des électrodes a nécessité une étude sur un logiciel de calcul par éléments finis COMSOL®.

Pour les simulations, des approximations sont réalisées. Nous utilisons des plaques encastres pour modéliser notre structure de 4 mm par 3 mm par 50 μm d’épaisseur. Afin de conserver un modèle simplifié, nous n’avons pas pris en compte l’influence des encastres sur les bords de la plaque. L’analyse a été réalisée en tenant compte de l’anisotropie du cristal.

Nous avons dans un premier temps vérifié le type d’onde généré par la configuration des électrodes en étudiant les composantes de contrainte et de déplacement dans l’épaisseur de la membrane. Nous avons pu ainsi valider que des ondes de cisaillement d’épaisseur se propageaient dans la membrane pour les fréquences calculées.

Le Tableau 2.5 répertorie les valeurs de fréquences de résonance obtenues pour le mode fondamental et l’harmonique 3 en comparant les résultats calculés analytiquement et ceux simulés. Les valeurs obtenues par la méthode des éléments finis sont proches de celles calculées avec notre modèle analytique. Le maximum de dispersion observé est de 0.2%.

| | $f_R(\text{MHz})$ | $f_{R3}(\text{MHz})$ |
|---|-------------------|----------------------|
| Résultats calcul analytiques | 33.37 | 100.12 |
| Résultats simulation par éléments finis | 33.45 | 100.30 |
| $\Delta f_R / f_R (\%)$ | 0.2% | 0.17% |

Tableau 2.5 – Valeurs des fréquences de résonance (en MHz) obtenues par l'équation (2.62) et évaluées par simulation par la méthode d'éléments finis.

Le dimensionnement des électrodes, et notamment l'écartement des électrodes, a été étudié par ce biais et nous nous sommes intéressés au déplacement des particules sur la membrane. La Figure 2.19 montre l'influence de l'écartement des électrodes sur l'amplitude de la polarisation de l'onde.

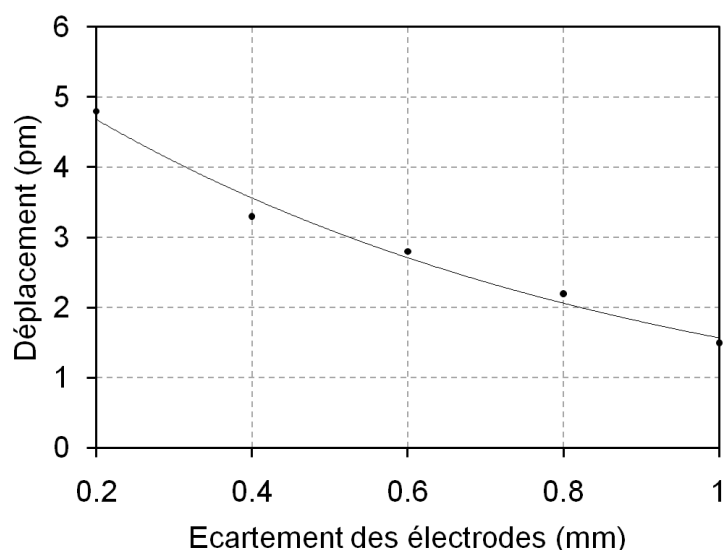


Figure 2.19- Amplitude des déplacements des particules de l'onde sur la surface active du capteur en fonction de l'écartement des électrodes pour une membrane d'épaisseur $e_p=50\mu\text{m}$.

Nous observons ici une diminution du déplacement lorsque l'écartement des électrodes augmente. Nous serons donc d'autant plus sensible si les électrodes sont proches l'une de l'autre. Or, nous souhaitons conserver une zone de vibration la plus large possible, ce qui sous entend que les électrodes devront recouvrir une grande partie de notre membrane de 4 mm par 3 mm. Nous avons donc opté pour des électrodes circulaires de 2.8 mm de diamètre et l'écartement sera de l'ordre de quelques centaines de micromètres afin de répondre au mieux aux deux critères précédents. La valeur minimale de l'écartement dépendra aussi des contraintes technologiques.

2.6 Modélisation du résonateur chargé

De l'équation (2.50), nous pouvons dire que la fréquence de résonance est dépendante de l'épaisseur du matériau ainsi que de sa masse. L'ajout d'un film d'épaisseur Δe_p et de masse Δm (Figure 2.20) va donc induire un shift de la fréquence de résonance vers les basses fréquences.

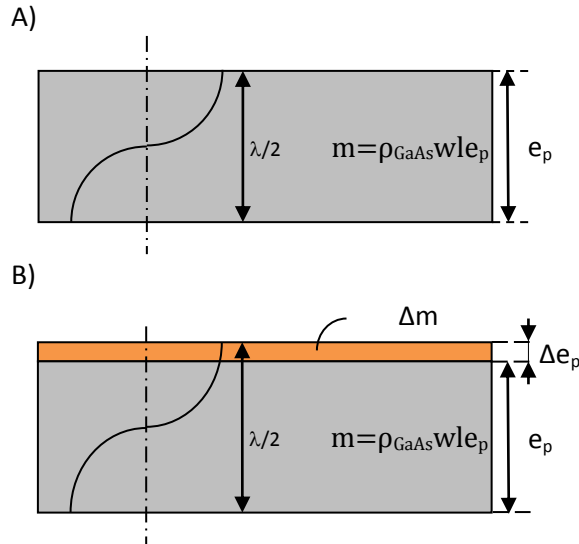


Figure 2.20 – Modélisation d'un résonateur à vide (A) et en charge (B)

Le film déposé est généralement de densité et de viscosité différente (ρ_c, η_c), ce qui se traduit par un décalage en fréquence, une variation de l'amplitude de la réponse et une diminution du coefficient de qualité. Les équations liant ces différentes grandeurs ont été établies par Sauerbrey [63] en 1959 sur du quartz et développées ensuite par de nombreux auteurs sur différents matériaux.

2.6.1 Effet de l'ajout de masse

Soit une plaque de masse volumique ρ , de longueur l , de largeur w , d'épaisseur e_p et de fréquence de résonance à vide f_0 , sur laquelle est déposée une couche de masse Δm , d'épaisseur Δe_p , la variation en fréquence en fonction de l'épaisseur ainsi que sa masse s'exprime par :

$$\frac{\Delta f_0}{f_0} = -\frac{\Delta e_p}{e_p} \text{ et } m = \rho w l e_p$$

(2.71)

La variation d'épaisseur peut s'exprimer par une variation de masse

$$\frac{\Delta f_0}{f_0} = -\frac{\Delta m}{m} \text{ avec } f_0 = \frac{V}{2e_p}$$

(2.72)

En introduisant l'équation de la masse dans la relation précédente,

$$\frac{\Delta f_0}{f_0} = -\frac{\Delta m 2f_0}{\rho w l V}$$

(2.73)

Il vient donc

$$\Delta f_0 = -2f_0^2 \frac{\Delta m}{\rho w l V}$$

(2.74)

Remarque : du fait que l'ajout de masse est considéré comme une extension de l'épaisseur du matériau, ces équations sont valables si on considère que la masse déposée est rigide (du même ordre de grandeur que le matériau), que la masse est répartie de façon homogène sur la surface et que la variation en fréquence reste inférieure à $\frac{\Delta f}{f} < 0,02$ [64].

Une autre méthode consiste à considérer une augmentation de la masse volumique afin de connaître la variation en fréquence en fonction de la variation de masse :

$$\rho_m = \rho_{GaAs} + \rho_{\Delta m} \text{ avec } \rho_{\Delta m} = \frac{\Delta m}{e_p w l}$$

(2.75)

on calcule ensuite la nouvelle vitesse de propagation V_c , soit

$$V_c = \sqrt{\frac{c_{44}}{\rho_m}}$$

(2.76)

et on calcule le décalage en fréquence correspondant en faisant la différence entre la fréquence de résonance à vide et la fréquence de résonance avec la couche additionnelle f_c :

$$\Delta f = f_c - f_0 \text{ avec } f_c = \frac{V_c}{2e_p}$$

(2.77)

En appliquant cette méthode à une membrane de GaAs de 4 mm par 3 mm et de 50µm d'épaisseur, nous avons obtenu la courbe Figure 2.21.

Nous voyons que la variation de fréquence est proportionnelle à la variation de masse. En déterminant le coefficient directeur de cette droite, nous pouvons déduire la sensibilité du capteur. La sensibilité du capteur est alors de 0.1 ng.Hz⁻¹. Comparativement, un quartz fonctionnant à 10 MHz a une sensibilité de 0.5 ng.Hz⁻¹ pour les mêmes dimensions de membrane (ρ = 2640 kg.m⁻³, V = 3330 m.s⁻¹). Nous pouvons donc espérer obtenir une sensibilité 5 fois supérieure pour cette géométrie.

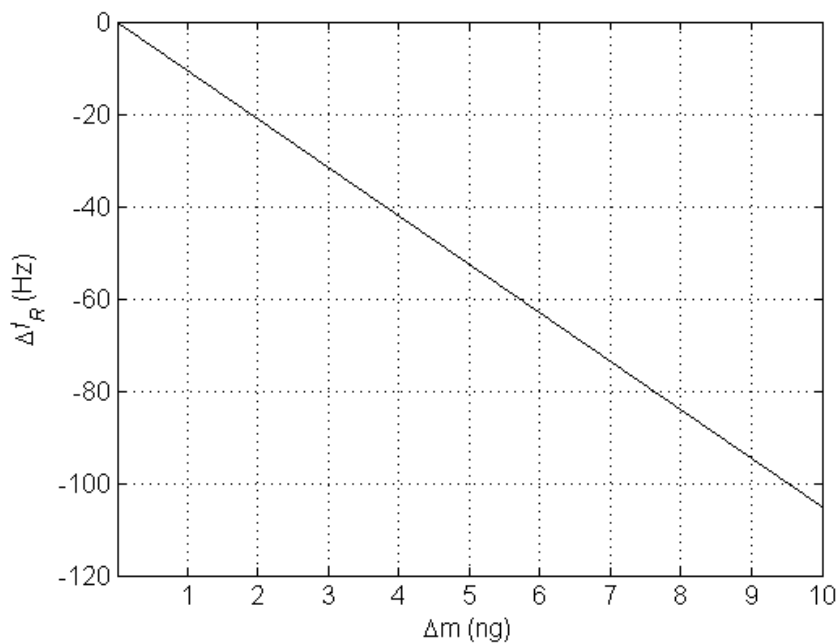


Figure 2.21 – Variation de la fréquence de résonance (Δf_r) induite par une faible variation de masse Δm sur la surface sensible du capteur.

Pour imager ces modifications de fréquence de résonance, nous avons tracé (Figure 2.22) les spectres théoriques des admittances pour une membrane non chargée (en bleu) et pour une variation de masse de 100 ng (en rouge) et 200 ng (en vert).

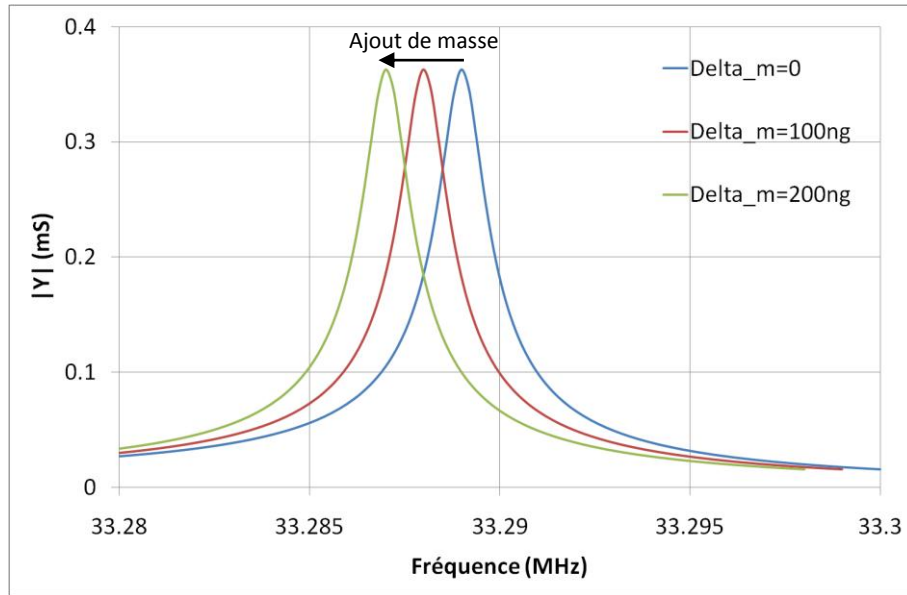


Figure 2.22 - Effet sur la fréquence de résonance d'un ajout de masse : sans ajout de masse (en bleu), avec une masse ajoutée de 100 ng (en rouge) et de 200 ng (en vert).

2.6.2 Effet de l'interface avec un milieu liquide

Nous avons annoncé précédemment que les capteurs BAW TSM étaient particulièrement adaptés pour travailler dans ces conditions du fait de la faible atténuation de l'amplitude de ces ondes par un liquide non visqueux (i.e. l'onde de cisaillement ne pouvant pas être transmise). Or, les liquides réels et notamment les fluides biologiques sont caractérisés par une viscosité plus ou moins élevée. Il est donc nécessaire de connaître l'atténuation du signal lorsque le capteur travaille dans un liquide.

Plusieurs auteurs, les plus cités étant Kanazawa et Gordon [14] ainsi que Martin et al. [16], ont modélisé le comportement de capteur BAW TSM fonctionnant en milieu liquide. Ils montrent que la viscosité η_l et la densité ρ_l du liquide engendrent une atténuation et un décalage du pic de résonance vers les basses fréquences. La variation en fréquence d'un capteur dont une face est en contact avec un fluide de viscosité η_l et la densité ρ_l est donnée par la relation de Kanazawa et Gordon [14] :

$$\Delta f = -f_0^{3/2} \sqrt{\frac{\eta_l \rho_l}{\pi \rho \mu}}$$

(2.78)

où μ est le coefficient de cisaillement du matériau, dans notre cas \bar{c}_{44} . L'atténuation due à la viscosité et la densité du liquide sera introduite dans le modèle équivalent par l'ajout d'une impédance élastique. L'atténuation et le décalage en fréquence sont d'autant plus marqués que la vitesse de déplacement des particules est importante (la fréquence de travail élevée). Nous

étudierons dans la section suivante les modélisations de Mason et de BVD associées à la mise en contact d'une face du résonateur avec un liquide.

Nous avons donc simulé le comportement de notre capteur en milieu liquide. Nous avons comparé le comportement théorique de notre capteur en air et en eau puis pour des solutions de viscosité et de densité plus élevées en diluant du glycérol (43% et 64% en masse) dans l'eau. Les caractéristiques des solutions aqueuses sont tirées dans la référence [16]. Nous avons obtenu les courbes théoriques suivantes :

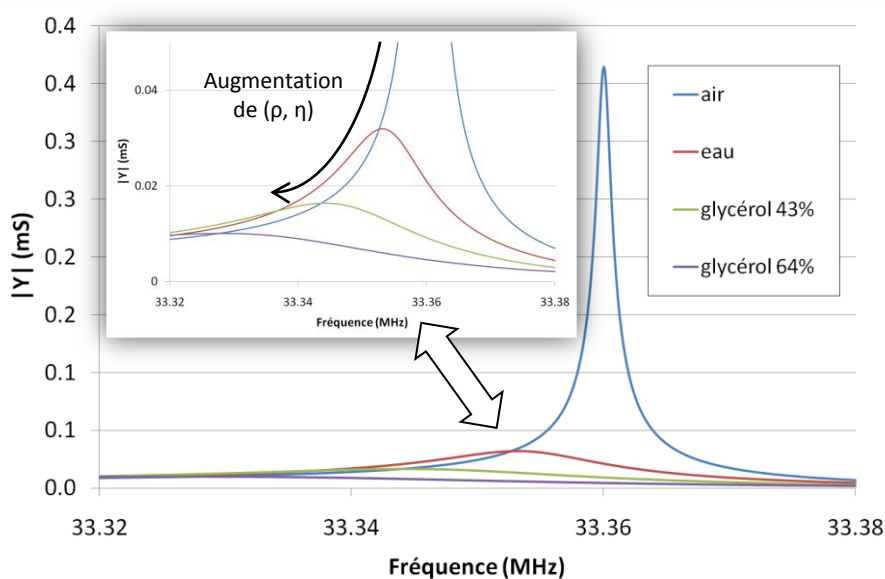


Figure 2.23 – Admittance caractéristique autour de la fréquence de résonance en air (courbe bleu) et pour différentes concentrations de glycérol : eau pure (rouge), 43% glycérol (vert) et 64% glycérol (violet). Les pourcentages sont donnés en masse.

Nous observons sur ces courbes que l'amplitude du signal diminue d'un facteur 10 si une face est en contact avec de l'eau et la fréquence de résonance est décalée de 7kHz environ. Nous voyons de plus que plus le couple densité/viscosité augmente, plus l'atténuation et le décalage en fréquence sont prononcés. Le tableau 2.6 reprend les paramètres (ρ_l , η_l) des fluides et l'évolution associée des caractéristiques du résonateur :

| | ρ_l (g.cm ³) | η_l (g.cm ⁻¹ .s ⁻¹) | Y max (μS) | Δf (kHz) | Q |
|--------------|----------------------------------|--|----------------|---------------------|-------|
| Air | 0 | 0 | 0.364 | 0 | 30370 |
| Eau | 1 | 0.01 | 31.9 | -6.9 | 2503 |
| Glycérol 43% | 1.05 | 0.0423 | 16.4 | -15.8 | 1242 |
| Glycérol 64% | 1.07 | 0.136 | 10 | -31.8 | 700 |

Tableau 2.6 - Atténuations et décalages en fréquence obtenus théoriquement lors du contact d'une face du résonateur avec des liquides de viscosité et de densité différentes.

2.6.3 Mesure de couche biologique

Précédemment, nous avons identifié le décalage en fréquence induit par la masse d'une couche ayant des propriétés proches de celles du matériau piézoélectrique. Puis, § 2.6.2, nous avons quantifié l'atténuation et le décalage en fréquence lors de l'utilisation du capteur dans différents liquides avec une charge nulle sur la face. Mais qu'en est-il pour une couche de masse Δm aux propriétés différentes de celles du matériau ?

C'est typiquement le cas de figure que nous rencontrons pour un biocapteur. La couche fixée à la surface a, d'une part, une viscoélasticité et une densité très différentes de celles du matériau et va, d'autre part, modifier la masse de l'élément vibrant. Les deux actions vont donc se combiner. De plus, si la couche est mesurée en milieu liquide, il faut tenir compte de l'atténuation et du décalage en fréquence dûs au milieu liquide en plus de ceux attribués à la couche biologique.

Du fait des coefficients viscoélastiques très différents de ceux du matériau, il est possible d'obtenir une variation importante de la fréquence de résonance par ce phénomène bien que la masse de la couche biologique soit relativement faible. C'est notamment le cas lors de la fixation de protéines [⁶⁵, ⁶⁶] ou de molécules d'ADN [¹⁷, ⁶⁷] sur la surface active du capteur. Il est de plus possible par ce biais d'obtenir des informations sur les propriétés mécaniques de la couche, ce qui n'est par exemple pas possible avec les systèmes SPR [⁶⁶].

2.6.4 Modélisation

2.6.4.1 Modèle de Mason

L'ajout d'une masse ou de liquide sur une des faces ou sur les deux faces se traduit par l'ajout d'une impédance élastique sur cette ou ces face(s), cela revient à ajouter une impédance élastique entre les bornes de l'entrée acoustique de la ou les face(s) correspondante(s). Par exemple, si le résonateur a une face en contact avec un liquide et l'autre dans l'air, il faudra ajouter une impédance acoustique spécifique entre les bornes de la face chargée et court-circuiter les bornes de la face exposée à l'air ($Z \approx 0$, $F \approx 0$). De même, pour un résonateur fonctionnant uniquement en air, il convient de court-circuiter les deux entrées élastiques.

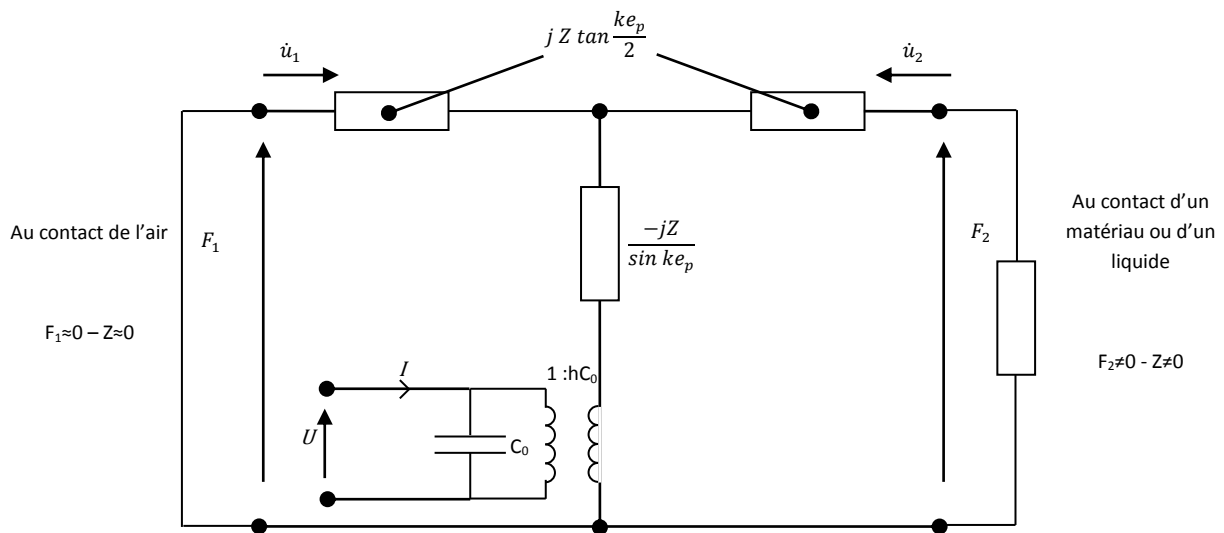


Figure 2.24 – Représentation de Mason d'un résonateur dont une face est chargée et l'autre libre [61]

2.6.4.2 Modèle de Butterworth Van Dyke

Nous l'avons vu dans la section 2.6.1, l'ajout d'une masse induit une variation vers les basses fréquences. De plus, le comportement viscoélastique ainsi que la masse volumique de la couche déposée induisent une diminution de l'amplitude de l'admittance à la résonance et une variation du coefficient de qualité. Dans le modèle de BVD, nous pouvons modéliser ce comportement en introduisant en série dans la branche motionnelle notée (L_1, C_1, R_1) :

- pour la variation de viscosité et de masse volumique : une inductance L_2 et une réactance R_2 , ce qui est compatible avec la variation de fréquence, d'amplitude et du coefficient de qualité mentionnée dans la section 2.6.2.
- pour la variation de masse : une inductance L_3 qui se traduit par un shift en fréquence.

Le schéma équivalent est présenté ci-dessous Figure 2.25. Les réponses pouvant être obtenues sont de la forme de celles présentées Figure 2.22/Figure 2.23. Pour une mesure en milieu liquide, il convient d'ajouter un couple LR supplémentaire pour traduire l'atténuation et le décalage en fréquence dû à la viscosité et à la densité du milieu.

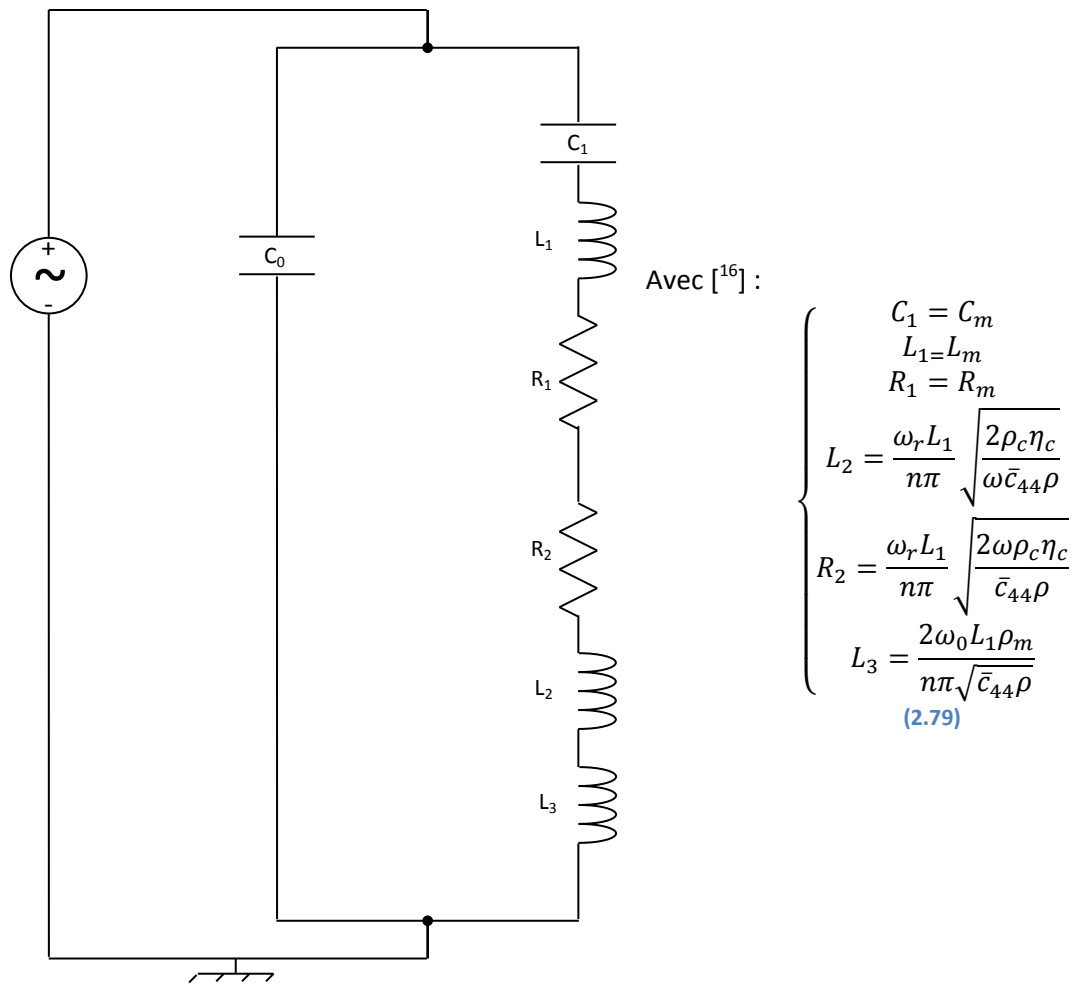


Figure 2.25 - Schéma équivalent sous chargement d'une masse et d'un liquide

A titre indicatif, nous donnons dans le Tableau 2.7 les valeurs calculées dans le cas du contact avec différents fluides (Figure 2.23).

| | C ₀ | C ₁ | L ₁ | R ₁ | L ₂ | R ₂ |
|--------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | (fF) | (aF) | (H) | (Ω) | (μH) | (kΩ) |
| Air | 17 | 6.0121 | 0.3786 | 2613 | 0 | 0 |
| Eau | | | | | 138 | 29.1 |
| Glycérol 43% | | | | | 292 | 61.3 |
| Glycérol 64% | | | | | 529 | 111 |

Tableau 2.7 – Valeurs calculées des éléments du circuit équivalent de Butterworth-Van Dyke utilisé lors du contact de différents liquides avec le résonateur.

2.6.5 Sensibilité maximale pouvant être obtenue avec une membrane fine

Nous avons calculé la sensibilité massique en milieu non visqueux du dispositif pour une membrane épaisse de 50 μm résonant sur le rang fondamental du mode de cisaillement. La sensibilité espérée est proche de celle que nous pouvons obtenir sur d'autres dispositifs comme les microbalances à quartz [67] et la SPR par exemple [68] ayant une limite de sensibilité de 0.5 ng/cm² [68].

Or la sensibilité du dispositif, que ce soit pour la sensibilité en masse ou pour la détection des modifications des propriétés du film fixé, est fortement dépendante de la fréquence de résonance et par conséquent de l'épaisseur de la plaque piézoélectrique. En effet, que ce soit l'équation de Sauerbrey [63] ou celle de Kanazawa [14], nous voyons que la sensibilité augmente de manière importante si on utilise une fréquence de résonance élevée. Deux stratégies sont alors possibles pour accroître la fréquence de résonance de notre dispositif : on peut soit se placer sur un rang de partiel supérieur, soit réduire l'épaisseur de la plaque.

Pour notre dispositif, nous avons choisi dans un premier temps de réaliser une plaque de 50 μm d'épaisseur. Cependant, nous envisageons par la suite de travailler sur des membranes beaucoup plus minces fonctionnant à des fréquences beaucoup plus élevées. Du fait que le GaAs est moins limité par des contraintes de fabrication pour la réalisation de structures fines, comme nous pouvons l'être pour les dispositifs en quartz par exemple, le seul facteur limitant la réduction d'épaisseur de la membrane est la limite à la rupture de la membrane. Il est donc possible d'estimer la sensibilité théorique maximale en déterminant l'épaisseur minimale nécessaire pour réaliser les interactions en milieu liquide.

Il faut donc dans un premier temps connaître la pression maximale appliquée sur la plaque mince. La pression maximale est déterminée à partir de la géométrie du circuit fluide et du débit du fluide. La configuration fluide est présentée au chapitre 5 dans la section 5.2.4 et 5.3.2. En appliquant le modèle de Bernoulli avec pertes de charge au système fluide, nous avons estimé une pression de 3525 Pa appliquée sur la membrane pour un débit de 50 μL.min⁻¹ (voir détail section 5.3.2.4).

La pression appliquée par le fluide sur la plaque étant connue, nous allons maintenant déterminer l'épaisseur minimale de la membrane afin d'assurer la résistance de la structure. Nous ferons l'approximation que la pression sur la membrane est uniforme et que le modèle utilisé reste vrai pour de très faible épaisseur.

Pour estimer l'épaisseur minimale de la membrane, il faut que la contrainte maximale contenue dans la membrane reste inférieure à la limite à la rupture du matériau, c'est-à-dire inférieure à une contrainte de 2.7 GPa [47]. Voici la démarche suivie : dans un premier temps, nous avons modélisé la structure et déterminé le comportement de la plaque soumise à une charge transversale uniforme. Les relations permettant de déterminer les contraintes maximales dans la structure ont été établies. Un programme sous matlab a permis de calculer les contraintes maximales pour différentes épaisseurs et d'estimer l'épaisseur minimum assurant la résistance de la plaque, c'est-à-dire l'épaisseur pour laquelle la contrainte maximale est équivalente à la résistance à la rupture divisée par un coefficient de sécurité.

La structure est donc modélisée par une plaque anisotrope avec une charge transversale uniformément répartie. Nous ferons l'hypothèse d'une plaque mince (ou de love kirchhoff) encastrée sur tous ses côtés.

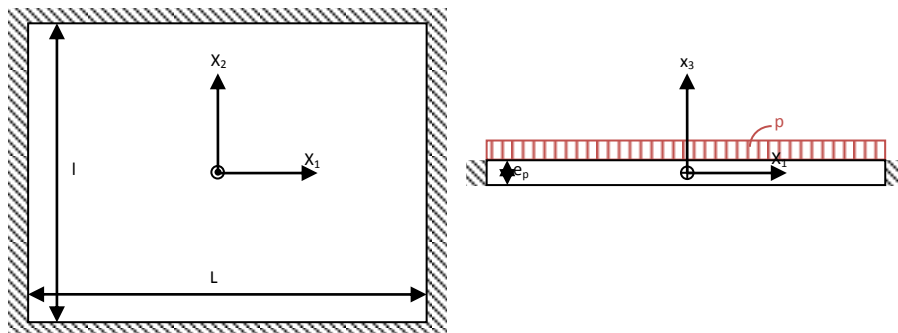


Figure 2.26 - Modélisation de la membrane soumise à la pression du fluide, avec $x_1=\langle 011 \rangle$, $x_2=\langle 01\bar{1} \rangle$, $x_3=\langle 100 \rangle$.

En appliquant la loi de Hooke généralisée

$$[\sigma] = [c][\varepsilon]$$

(2.80)

où les coefficients de la matrice de rigidité $[c]$ sont écrits dans le repère de la membrane (§ 2.2.5).

On fait l'hypothèse de contrainte plane, $\sigma_{33}=0$, et on pose $\varepsilon_3 = -\frac{1}{c_{33}}(c_{13}\varepsilon_1 + c_{23}\varepsilon_2 + c_{33}\varepsilon_3)$. Il est alors possible de déduire de la loi de Hooke la matrice de rigidité réduite [Q] qui représente le comportement de la couche anisotrope en contrainte plane :

$$\begin{pmatrix} \sigma_1 \\ \sigma_2 \\ \sigma_6 \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} Q_{11} & Q_{12} & Q_{16} \\ Q_{21} & Q_{22} & Q_{26} \\ Q_{61} & Q_{62} & Q_{66} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_6 \end{pmatrix} \text{ avec } Q_{ij} = c_{ij} - \frac{c_{i3}c_{j3}}{c_{33}}$$

(2.81)

La structure subit majoritairement une déformation de flexion du fait du chargement transverse. La contrainte maximale sera donc induite par un moment de flexion. Les moments de flexion M_{11} et M_{22} et de torsion M_{12} s'écrivent

$$M(x_1, x_2) = \begin{pmatrix} M_{11} \\ M_{22} \\ M_{12} \end{pmatrix} = \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} \begin{pmatrix} \sigma_1 \\ \sigma_2 \\ \sigma_6 \end{pmatrix} z dz \text{ où } M(x_1, x_2) \text{ s'exprime en N}$$

(2.82)

En introduisant la matrice de rigidité réduite, la déflexion w et l'expression des déformations dans la théorie des plaques minces ($\varepsilon_1 = \varepsilon_{11} = -z \frac{\partial^2 w}{\partial x^2}$, $\varepsilon_2 = \varepsilon_{22} = -z \frac{\partial^2 w}{\partial y^2}$, $\varepsilon_6 = 2\varepsilon_{12} = -2z \frac{\partial^2 w}{\partial x \partial y}$), l'expression précédente devient :

$$\begin{pmatrix} M_{11} \\ M_{22} \\ M_{12} \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} D_{11} & D_{12} & D_{16} \\ D_{21} & D_{22} & D_{26} \\ D_{61} & D_{62} & D_{66} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} -z \frac{\partial^2 w}{\partial x^2} \\ -z \frac{\partial^2 w}{\partial y^2} \\ -2z \frac{\partial^2 w}{\partial x \partial y} \end{pmatrix} \text{ avec } D_{ij} = Q_{ij} \left(\frac{e^3}{12} \right)$$

(2.83)

La contrainte maximale est appliquée au point $\left(\frac{L}{2}, 0, \frac{e_p}{2}\right)$ par l'intermédiaire de moment fléchissant M_{11} ,

$$\sigma_{max} = \frac{M_{max} \cdot \frac{e_p}{2}}{I} \text{ avec } M_{max} = M_{11} \left(\frac{L}{2}, 0 \right) \text{ et } I = \frac{e_p^3}{12}$$

(2.84)

où I est le moment quadratique de la plaque.

Il faut donc déterminer la forme de M_{11} afin d'estimer M_{max} et d'en déduire σ_{max} . Pour déduire la forme de M_{11} , il faut se rapporter à la relation fondamentale de la dynamique :

$$\text{div} \vec{\sigma} + \vec{f} = \rho \vec{a}$$

(2.85)

Et en faisant les hypothèses suivantes :

- Les effets d'inertie sont négligeables,
- La pression est constante, on se rapporte donc à un problème statique ($\vec{a}=0$)
- Il n'y a pas de force de volumique
- il n'y a pas de cisaillement sur les faces

Il vient

$$\frac{\partial^2 M_{11}}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 M_{22}}{\partial y^2} + 2 \frac{\partial^2 M_{12}}{\partial x \partial y} + \rho = 0$$

(2.86)

En introduisant les expressions des moments de flexion et de torsion dans la relation précédente, l'équation devient :

$$D_{11} \frac{\partial^4 w}{\partial x^4} + 2H \frac{\partial^4 w}{\partial x^2 \partial y^2} + D_{22} \frac{\partial^4 w}{\partial y^4} + \rho = 0 \text{ avec } H = D_{12} + 2D_{66}$$

(2.87)

Où D_{11} et D_{22} sont les rigidités en flexion et H la rigidité effective en torsion. Ces expressions ont été principalement déduites de la référence [69].

Il faut donc trouver une forme à la déflexion w qui satisfasse les conditions limites. Du fait des encastrements de tous les contours de la plaque, les conditions limites sont

$$\begin{aligned} \text{en } x = \pm \frac{L}{2} & \begin{cases} w = 0 \\ \frac{dw}{dx} = 0 \end{cases} \\ \text{en } y = \pm \frac{l}{2} & \begin{cases} w = 0 \\ \frac{dw}{dy} = 0 \end{cases} \end{aligned}$$

(2.88)

Or il n'existe pas de solution analytique pour ce problème, nous utiliserons donc une solution variationnelle dite de Galerkin. Cette méthode est détaillée dans la référence [70].

La fonction de la déflexion, satisfaisant les conditions limites, est approximée par :

$$w = a_{00}\varphi_{00} \text{ avec } \varphi_{00} = \left(x^2 - \frac{L^2}{4}\right)^2 \left(y^2 - \frac{l^2}{4}\right)^2$$

(2.89)

Rq : une forme de déflexion plus complexe a été testée

$$w = a_{00}\varphi_{00} + a_{20}\varphi_{20} + a_{02}\varphi_{02} \text{ avec } \begin{cases} \varphi_{20} = \varphi_{00} x^2 \\ \varphi_{02} = \varphi_{00} y^2 \end{cases}$$

(2.90)

avec des résultats très proches. Vu les approximations faites, la forme de w précédente est suffisante.

Il faut donc déterminer a_{00} à partir de l'équation suivante :

$$\iint_A \left(D_{11} \frac{\partial^4 w}{\partial x^4} + 2H \frac{\partial^4 w}{\partial x^2 \partial y^2} + D_{22} \frac{\partial^4 w}{\partial y^4} + p \right) \varphi_{00} dx dy = 0$$

(2.91)

Connaissant la forme de la déflexion w , il est possible de calculer M_{max}

$$M_{max} = M_{11} \left(\frac{L}{2}, 0 \right) = - \left(D_{11} z \frac{\partial^2 w}{\partial x^2} + D_{12} z \frac{\partial^2 w}{\partial y^2} \right)$$

(2.92)

On en déduit la contrainte maximale

$$\sigma_{max} = \frac{M_{max} \cdot \frac{e}{2}}{I}$$

(2.93)

Sous Matlab, nous avons pu créer un programme permettant la résolution de ces équations. Nous avons calculé la contrainte maximale pour des épaisseurs comprises entre 2 μm et 10 μm (Figure 2.27).

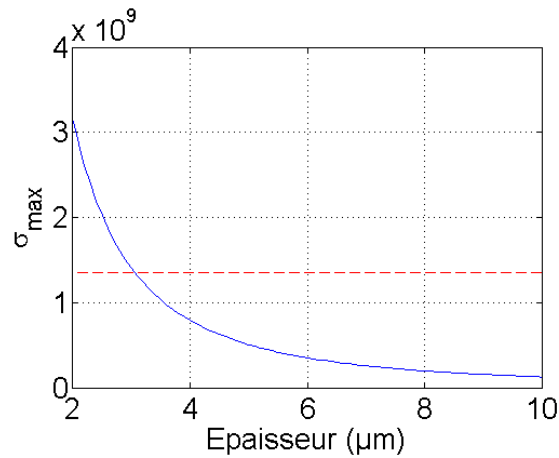


Figure 2.27 – Contrainte maximale en fonction de l'épaisseur de la plaque. La ligne rouge matérialise la contrainte maximale admissible du matériau (contrainte à la rupture du GaAs divisée par le coefficient de sécurité)

En comparant les valeurs obtenues à la contrainte à la rupture de la membrane et en prenant un coefficient de sécurité de 2 (prise en compte des approximations faites lors de la modélisation, notamment de l'effet de la géométrie du circuit fluidique) :

$$\sigma_{max} \leq \frac{\sigma_r}{\text{coef. sécurité}}$$

(2.94)

où $\sigma_r = 2.7 \text{ GPa}$ [47] est la limite à la rupture.

Une épaisseur minimale de la plaque de $3 \mu\text{m}$ est donc nécessaire pour assurer une résistance suffisante de la structure. Pour cette épaisseur, la sensibilité à l'effet de masse peut alors être déterminée et est de $0.35 \text{ pg} \cdot \text{Hz}^{-1}$ pour le mode fondamental ($f_r = 557 \text{ MHz}$). Il est possible d'utiliser les harmoniques d'ordres supérieurs pour obtenir une sensibilité plus élevée ($S=38 \text{ fg} \cdot \text{Hz}^{-1}$ pour l'harmonique 3 ($f_{r3} = 1.67 \text{ GHz}$) et $S=13 \text{ fg} \cdot \text{Hz}^{-1}$ pour l'harmonique 5 ($f_{r5} = 2.78 \text{ GHz}$)).

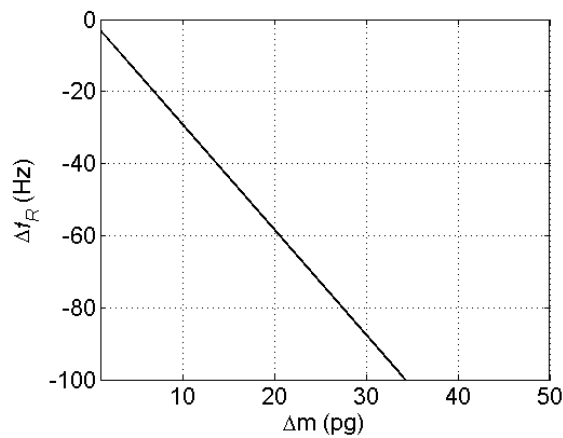


Figure 2.28 - Sensibilité en masse du capteur fonctionnant en milieu non visqueux pour une épaisseur de $3 \mu\text{m}$ pour le rang fondamental.

De plus, d'après la formule de Kanazawa [14], nous voyons que le décalage en fréquence et l'atténuation sont d'autant plus marqués que la fréquence est grande. Il en va de même si l'on s'intéresse aux paramètres motionnels de la couche où l'atténuation (R_2) et le décalage en fréquence (L_2) sont liés à la fréquence de travail. Il faut cependant considérer le faible facteur de qualité à ces fréquences et la forte atténuation du signal afin de définir la variation de fréquence minimale détectable et ainsi estimer la masse minimale mesurable par le capteur. Les mesures expérimentales permettront de définir le seuil de détection en s'intéressant à la variation d'impédance (ou d'admittance) minimale détectable.

Conclusion

Après avoir introduit le principe de transduction basé sur des ondes de volume et les caractéristiques de l'arséniure de gallium pour ses applications, nous avons établi à partir des équations de la piézoélectricité le comportement du système. La création d'abaque représentant le coefficient de couplage électromécanique nous a permis de choisir un plan cristallin et une orientation des électrodes adaptés pour la réalisation d'un capteur le plus sensible fonctionnant en mode d'épaisseur. En effet, pour un substrat de GaAs orienté suivant un plan (100), nous avons pu isoler un

mode d'excitation d'épaisseur, le mode b ou le mode c. Pour une orientation des électrodes dans la direction $\langle 011 \rangle$, nous avons obtenu un coefficient de couplage maximal de 6.6%.

Une fois les équations établies et l'orientation cristalline fixée, nous avons modélisé le comportement de notre résonateur. Nous avons établi la relation liant la fréquence de résonance et l'épaisseur de la structure, ces deux grandeurs étant inversement proportionnelles. De plus, Les harmoniques impaires peuvent être utilisées et leurs fréquences de résonance s'obtiennent en multipliant la fréquence de résonance du rang fondamental. Nous avons aussi modélisé le comportement de la structure avec un modèle équivalent électrique. Le modèle retenu est un modèle 1D de Butterworth Van Dyke, très répandu pour l'étude de résonateur. Nous avons pu, grâce à ce modèle puis par une étude par éléments finis, étudier le comportement théorique de la structure en fonction des dimensions de la membrane ainsi que des électrodes. La structure retenue est une membrane de dimension latérale de 4 mm par 3 mm possédant des électrodes de 2.8 mm de diamètre distantes l'une de l'autre de 0.8 mm. L'épaisseur de la plaque sera fonction de la fréquence de travail désirée mais nous voulons pour le moment tester la réalisation de plaque de 50 μm d'épaisseur.

En utilisant les équations établies par Sauerbrey, nous avons calculé la réponse théorique de notre capteur dans le cadre d'un dépôt de film solide. La sensibilité de détection théorique du capteur est de 0.1 ng.Hz^{-1} à la fréquence de 33.36 MHz qui correspond au rang fondamental pour une épaisseur de 50 μm . Dans ces conditions, le coefficient de qualité estimé est d'environ 30 000 en air et 2 500 en liquide. De plus, en réduisant l'épaisseur de la membrane et en utilisant des rangs de vibration plus élevés, cette sensibilité massique peut être augmentée. Pour une épaisseur de 3 μm , épaisseur limite assurant la résistance de la membrane, une sensibilité massique de 0.35 pg.Hz^{-1} est obtenue pour le rang fondamental.

Dans le cas de film biologique, la densité et la viscosité étant très différentes de celles du matériau et variables au cours de l'interaction biologique, l'atténuation et le décalage en fréquence induits par ses propriétés sont des informations très intéressantes à suivre et nous donnent des indications supplémentaires sur les propriétés viscoélastiques de la couche en plus de la variation de masse. Le modèle de Butterworth Van Dyke est là encore bien adapté pour ce genre de modélisation et nous avons pu tirer de la bibliographie les relations permettant de remonter aux caractéristiques d'une couche fluide déposée.

Le signal devra cependant conserver une amplitude suffisante pour qu'on puisse discerner ces modifications. Cette notion est d'autant plus vraie que le fait de travailler en liquide induit déjà une atténuation, i.e. une réduction du facteur de qualité, et un décalage fréquentiel important. Dans ces conditions, il est difficile de prévoir la limite de détection du système du fait qu'il est impossible de déterminer précisément les pertes que subit le dispositif (effet aux encastrements, fixation du résonateur, coefficient viscoélastique du matériau inconnu, viscosités et densité des couches déposées...) et de connaître le bruit de mesure. Seuls des essais permettront de définir la quantité minimale de biomolécules détectable sur la surface active de notre capteur.

Dans le chapitre suivant, nous nous focaliserons sur la réalisation de la structure du capteur en nous intéressant aux procédés de microfabrication. Nous parlerons aussi succinctement des techniques de fabrication permettant d'obtenir une membrane très fine et donc une sensibilité très élevée. Nous présenterons dans le dernier chapitre les résultats des mesures réalisées que nous comparerons au comportement théorique que nous avons développé dans ce chapitre.

Références

1. Mecea, V. M., From Quartz Crystal Microbalance to Fundamental Principles of Mass Measurements. *Analytical Letters* **2005**, 38, (5), 753-767.
2. Mecea, V. M., Is quartz crystal microbalance really a mass sensor? *Sensors and Actuators A: Physical* **2006**, 128, (2), 270-277.
3. Campanella, H., *Acoustic wave and electromechanical resonator : concept to key applications*. Artech House ed.; London, 2010.
4. Steinem, C.; Janshoff, A., *Piezoelectric sensors*. Springer ed.; 2007; Vol. 5.
5. Rosenbaum, J., *Bulk acoustic wave theory and devices*. Artech House ed.; London, 1988.
6. Wen-Yan, W.; Chao, Z.; Zhi-Tian, Z.; Yan, L.; Guan-Ping, F., Lateral-field-excitation properties of LiNbO₃ single crystal. *Chinese Physics B* **2009**, 18, (2), 795.
7. French, L. A. A theoretical model of a lateral-field excited sensor element under liquid loading. University of maine, Orono, 2011.
8. Walls, F. L.; Gagnepain, J.-J., Environmental sensitivities of quartz oscillators. *IEEE Transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* **1992**, 39, (2), 241-249.
9. Skládal, P., Piezoelectric quartz crystal sensors applied for bioanalytical assays and characterization of affinity interactions. In scielo: 2003; Vol. 14, pp 491-502.
10. Arnau, A.; Jimenez, Y.; Sogorb, T., Thickness-shear mode quartz crystal resonators in viscoelastic fluid media. *Journal of Applied Physics* **2000**, 88, (8), 4498-4506.
11. Ferreira, G. N. M.; da-Silva, A.-C.; Tomé, B., Acoustic wave biosensors: physical models and biological applications of quartz crystal microbalance. *Trends in Biotechnology* **2009**, 27, (12), 689-697.
12. Heinisch, M.; Reichel, E. K.; Voglhuber-Brunnmaier, T.; Jakoby, B., A double membrane sensor for liquid viscosity facilitating measurements in a large frequency range. *Procedia Engineering* **2010**, 5, (0), 1458-1461.
13. Kanazawa, K.; Cho, N.-J., Quartz Crystal Microbalance as a Sensor to Characterize Macromolecular Assembly Dynamics. *Journal of Sensors* **2009**, 2009, ID 824947.
14. Kanazawa, K. K.; Gordon, J. G., Frequency of a quartz cristal microbalance in contact with liquid. *Analytical Chemistry* **1985**, 57, 1770-1771.
15. Martin, S. J.; Bandey, H. L.; Cernosek, R. W.; Hillman, A. R.; Brown, M. J., Equivalent-Circuit Model for the Thickness-Shear Mode Resonator with a Viscoelastic Film Near Film Resonance. *Analytical Chemistry* **2000**, 72, (1), 141-149.
16. Martin, S. J.; Granstaff, V. E.; Frye, G. C., Characterization of a quartz crystal microbalance with simultaneous mass and liquid loading. *Analytical Chemistry* **1991**, 63, 2272-2281.
17. Zhou, A.; Zhang, J.; Xie, Q.; Yao, S., Impedance analysis for the investigation of the behaviors of piezoelectric quartz crystal in the liquid at harmonic resonance. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2000**, 67, (1-2), 68-75.
18. Garrido, J. A. Piezoelectric Biochemical Sensors.
http://www.wsi.tum.de/Portals/0/Media/Lectures/20082/98f31639-f453-466d-bbc2-a76a95d8dead/BiosensorsBioelectronics_lecture9.pdf
19. Pinkham, W. A. A lateral field excited acoustic wave pesticide sensor. University of maine, Orono, 2007.
20. Vig, J. R.; Ballato, A. Chemical and biological sensor based on microresonators. 1998.
21. Atanasoff, J. V.; Hart, P. J., Dynamical Determination of the Elastic Constants and Their Temperature Coefficients for Quartz. *Physical Review* **1941**, 59, (1), 85-96.
22. Vig, J. R.; Ballato, A. Techniques for sensing the properties of fluids with resonator assembly. 2001.
23. Hu, Y.; French Jr, L. A.; Radecsky, K.; DaCunha, M. P.; Millard, P.; Vetelino, J. F., A lateral field excited liquid acoustic wave sensor. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* **2004**, 51, (11), 1373-1380.

24. Hu, Y.; Pinkham, W.; French Jr, L. A.; Frankel, D.; Vetelino, J. F., Pesticide detection using a lateral field excited acoustic wave sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2005**, 108, (1-2), 910-916.
25. Hempel, U.; Lucklum, R.; Hauptmann, P. R.; EerNisse, E. P.; Puccio, D.; Diaz, R. F., Quartz crystal resonator sensors under lateral field excitation - a theoretical and experimental analysis. *Measurement Science and Technology* **2008**, 19, (5), 055201.
26. Hempel, U.; Lucklum, R.; Vetelino, J. F.; Hauptmann, P., Advanced application of the impedance spectrum of a lateral field excited sensor. *Sensors and Actuators A: Physical* **2008**, 142, (1), 97-103.
27. Liu, B.; Jiang, Q.; Xie, H.; Yang, J., Energy trapping in high-frequency vibrations of piezoelectric plates with partial mass layers under lateral electric field excitation. *Ultrasonics* **2011**, 51, (3), 376-381.
28. Wang, W.; Zhang, C.; Liu, Y.; Ding, T., Impedance analysis for lateral field excited acoustic wave sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2011**, 156, (2), 969-975.
29. Peters, C.; Fernandez, R.; Lucklum, R.; Fochtmann, J.; McCann, D.; Vetelino, J.; Arnau, A., Optimization of the lateral field excited platform for liquid sensing applications. *Procedia Engineering* **2010**, 5, (0), 1224-1227.
30. Ma, T.; Zhang, C.; Feng, G., Lateral field excited Y-cut langasite bulk acoustic wave sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2011**, 153, (1), 50-53.
31. Chen, D.; Wang, J.; Li, D.; Zhang, L.; Wang, X., The c-axis oriented AlN solidly mounted resonator operated in thickness shear mode using lateral electric field excitation. *Applied Physics A: Materials Science & Processing* **2010**, 100, (1), 239-244.
32. Hjort, K.; Soderkvist, J.; Schweitz, J.-A., Gallium arsenide as a mechanical material. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1994**, 4, (1), 1.
33. Carter, D. E.; Aposhian, H. V.; Gandolfi, A. J., The metabolism of inorganic arsenic oxides, gallium arsenide, and arsine: a toxicological review. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2003**, 193, (3), 309-334.
34. Harrison, M. T.; Hartmann, C. B.; McCoy, K. L., Impact of in vitro gallium arsenide exposure on macrophages. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2003**, 186, (1), 18-27.
35. Hartmann, C. B.; McCoy, K. L., Gallium arsenide exposure impairs processing of particulate antigen by macrophages: Modification of the antigen reverses the functional defect. *Life Sciences* **2004**, 75, (4), 485-498.
36. Baca, A. G.; Ashby, C. I. H., *Fabrication of GaAs devices*. IET: London, 2005.
37. McGuinness, C. L.; Blasini, D.; Masejewski, J. P.; Uppili, S.; Cabarcos, O. M.; Smilgies, D.; Allara, D. L., Molecular Self-Assembly at Bare Semiconductor Surfaces: Characterization of a Homologous Series of n-Alkanethiolate Monolayers on GaAs(001). *ACS Nano* **2007**, 1, (1), 30-49.
38. Vilan, A.; Ussyshkin, R.; Gartsman, K.; Cahen, D.; Naaman, R.; Shanzer, A., Real-Time Electronic Monitoring of Adsorption Kinetics: Evidence for Two-Site Adsorption Mechanism of Dicarboxylic Acids on GaAs(100). *The Journal of Physical Chemistry B* **1998**, 102, (18), 3307-3309.
39. Artzi, R.; Daube, S. S.; Cohen, H.; Naaman, R., Adsorption of Organic Phosphate as a Means To Bind Biological Molecules to GaAs Surfaces. *Langmuir* **2003**, 19, (18), 7392-7398.
40. Dieulesaint, E.; Royer, R., *Ondes élastiques dans les solides - Application au traitement du signal*. Masson et C^{ie} ed.; 1974.
41. Blakemore, J. S., Semiconducting and other major properties of gallium arsenide. *Journal of Applied Physics* **1982**, 53, (10), R123-R181.
42. Soderkvist, J.; Hjort, K., The piezoelectric effect of GaAs used for resonators and resonant sensors. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1994**, 4, (1), 28.
43. Casalnuovo, S. A.; Heller, E. J.; Hietala, V. M.; Baca, A. G.; Kottenstette, R.; Hietala, S. L.; Reno, J. L.; Frye-Mason, G. C., Acoustic wave chemical microsensors in GaAs. **1998**.
44. Casalnuovo, S. A.; Heller, E. J.; Hietala, V. M.; Baca, A. G.; Kottenstette, R.; Hietala, S. L.; Reno, J. L.; Frye-Mason, G. C., Monolithic integration of GaAs SAW chemical microsensor arrays and detection electronics. **2000**.

45. D'Amico, A.; Verona, E., Saw sensors. *Sensors and Actuators* **1989**, 17, (1-2), 55-66.
46. Ballato, A., Piezoelectric excitation of semiconductor plates. *Ultrasonics* **2000**, 38, (1-8), 849-851.
47. Hjort, K., Gallium arsenide micromechanics : a comparison to silicon and quartz. Gallium Arsenide Applications Symposium. GAAS 1994, 28-30 April 1994, Turin, Italy, pp. 65.
48. Hjort, K.; Schweeger, G.; Dehe, A.; Fricke, K.; Hartnagel, H. L., Thickness-field excited thickness-shear resonators in (110) GaAs. *Applied Physics Letters* **1995**, 66, (3), 326-328.
49. Söderkvist, J.; Hjort, K., Flexural vibrations in piezoelectric semi-insulating GaAs. *Sensors and Actuators A: Physical* **1993**, 39, (2), 133-139.
50. Roland, I.; Masson, S.; Ducloux, O.; Le Traon, O.; Bosseboeuf, A., GaAs-based tuning fork microresonators: A first step towards a GaAs-based coriolis 3-axis Micro-Vibrating Rate Gyro (GaAs 3-axis GaAs-based tuning fork microresonators: A first step towards a GaAs-based coriolis 3-axis Micro-Vibrating Rate Gyro (GaAs 3-axis μ CVG). *Sensors and Actuators A: Physical* **2011**, 172, (1), 204-211.
51. Fricke, K.; Hartnagel, H. L., Pressure measurement by GaAs piezoelectric sensors. *Electronics Letters* **1990**, 26, (11), 693-694.
52. Fricke, K., Piezoelectric properties of GaAs for application in stress transducers. *Journal of Applied Physics* **1991**, 70, (2), 914-918.
53. Goswami, N.; Lal, K.; Miao, J.; Hartnagel, H. L., Microfabrication and characterization of gallium arsenide membranes for force sensor applications. *Indian journal of pure & applied physics* **2007**, 45, (4), 5.
54. Pan, E., Elastic and piezoelectric fields in substrates GaAs (001) and GaAs (111) due to a buried quantum dot. *Journal of Applied Physics* **2002**, 91, (10), 6379-6387.
55. Soshnikov, I.; Afanas'ev, D.; Petrov, V.; Cirilin, G.; Bouravlev, A.; Samsonenko, Y.; Khrebtov, A.; Tanklevskaya, E.; Seleznev, I., Piezoelectric effect in GaAs nanowires. *Semiconductors* **2011**, 45, (8), 1082-1084.
56. Adachi, S., GaAs, AlAs, and $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$: Material parameters for use in research and device applications. *Journal of Applied Physics* **1985**, 58, (3), R1-R29.
57. Meeker, T. R., *IEEE standards on Piezoelectricity*. 1987; Vol. ANSI/IEEE Std 176.
58. Corso, C. D.; Dickherber, A.; Hunt, W. D., Lateral field excitation of thickness shear mode waves in a thin film ZnO solidly mounted resonator. *Journal of Applied Physics* **2007**, 101, (5), 054514-7.
59. Lee, P. C. Y. In *Electromagnetic radiation from an AT-cut quartz plate under lateral-field excitation* Proceedings. IEEE Ultrasonics Symposium, 1988., Chicago, 1988; Chicago, 1988; p 407.
60. Ballato, A.; Lukaszek, T.; Mizan, M.; Kosinski, J. In *lateral and thickness-field coupling in zincblende structures*, Proceeding of the 41st annual frequency symposium, new York, 1987; new York, 1987; pp 325-332.
61. Brissaud, M., *Matériaux piézoélectriques - Caractérisation, modélisation et vibration*. Presses polytechniques et universitaires romandes ed.; Lausanne, 2007.
62. Pujouly, S. Quartz er résonateur piézo-électrique. <http://www.poujouly.net>
63. Sauerbrey, G., Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung. *Zeitschrift für Physik* **1959**, 155, (2), 206-222.
64. Srivastava, A. K.; Sakthivel, P., *J. Vac. Sci. Technol. A* **2001**, 19, (1).
65. Liu, S. X.; Kim, J.-T., Application of Kevin-Voigt Model in Quantifying Whey Protein Adsorption on Polyethersulfone using QCM-D. *JALA* **2009**, 14, (213-220).
66. Liu, Y.; Yu, X.; Zhao, R.; Shangguan, D.-H.; Bo, Z.; Liu, G., Quartz crystal biosensor for real-time monitoring of molecular recognition between protein and small molecular medicinal agents. *Biosensors and Bioelectronics* **2003**, 19, (1), 9-19.
67. Garcoa-Martinez, G.; Bustabad, E. A.; Perrot, H.; Gabrielli, C.; Bucur, B.; Lazerges, M.; Rose, D.; Rodriguez-Pardo, L.; Farina, J.; Compère, C.; Vives, A. A., Development of a Mass Sensitive Quartz Crystal Microbalance (QCM)-Based DNA Biosensor Using a 50 MHz Electronic Oscillator Circuit. **2011**, 11, (8), 7656-7664.

68. Nirschl, M.; Reuter, F.; Voros, J., Review of Transducer Principles for Label-Free Biomolecular Interaction Analysis. *Biosensors* **2011**, 1, (3), 70-92.
69. Molimard, J., *Mécanique des Matériaux Composites*. EMSE: 2004.
70. Mbakogu, F. C.; Pavlovic, M. N., Bending of clamped orthotropic rectangular plates: a variational symbolic solution. *Computers & Structures* **2000**, 77, (2), 117-128.

3 Microfabrication

Introduction

Les propriétés piézoélectriques de l'arséniure de gallium sont très attractives pour une application biocapteur du fait de la haute sensibilité et stabilité des dispositifs résonants [1-4]. Dans ce domaine, le quartz reste jusqu'à présent le matériau de référence pour la réalisation de dispositifs utilisant comme méthode de transduction des ondes de volume ou de surface [1, 3, 5, 6]. Il est notamment utilisé pour la fabrication des microbalances à quartz. Les méthodes de fabrication de microleviers ou de disques dans des plans cristallographiques spécifiques telles que les coupes Z et AT [7] sont bien connues mais la réalisation de structures dans des coupes non conventionnelles montre très rapidement des limites [8, 9]. L'arséniure de gallium semi-isolant est une alternative intéressante à ce matériau [10] car il permet à la fois de combiner des propriétés de transduction performantes avec des techniques de fabrication MEMS avancées permettant l'obtention de structures complexes [11].

La plupart des procédés de microfabrication applicables au silicium, le matériau de référence, sont adaptables à l'arséniure de gallium et font de ce matériau le second matériau le plus utilisé dans le domaine des microtechniques. Ainsi les techniques classiques de dépôt, de croissance de couche, de structuration (gravure humide, électrochimie, gravure sèche), de dopage (diffusion, implantation) ou de « bonding », c'est-à-dire de collage avec d'autres dispositifs, sont possibles.

Pour la réalisation de notre biocapteur, dont la géométrie a été précédemment définie (cf chapitre 2), deux étapes de fabrication se dégagent : la réalisation du circuit électrique face avant et la réalisation de la membrane face arrière. Cependant, du fait de la différence d'épaisseur entre la membrane (50 μm ou moins) et le substrat initial (350 μm), nous avons fait le choix d'ajouter une étape supplémentaire permettant d'amincir notre wafer à une épaisseur de 200 μm afin d'accroître la précision de notre usinage. La figure ci-dessous reprend schématiquement les 3 étapes principales pour la fabrication de notre capteur.

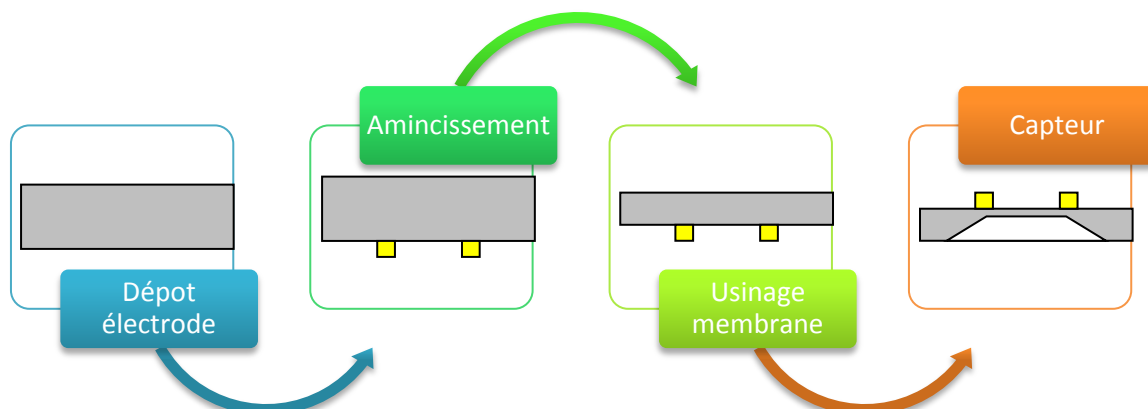


Figure 3.1 - Etapes principales de fabrication pour le capteur GaAs

Dans ce chapitre, nous ferons tout d'abord un tour d'horizon des différentes techniques de micro-fabrication. Nous choisirons ensuite les techniques les plus adaptées à la réalisation de notre membrane. Une étude détaillée théorique et expérimentale du processus de fabrication ainsi qu'une caractérisation géométrique nous permettront d'assurer la bonne réalisation de notre structure. Enfin nous verrons comment une microstructuration particulière de la surface permet d'accroître la sensibilité globale de notre dispositif.

3.1 Fabrication de microsystèmes en GaAs

La plupart des procédés de microfabrication peuvent être adaptés à l'Arséniure de Gallium, que ce soient des techniques :

- de dépôts (dépôt physique ou chimique en phase vapeur, électrodéposition),
- de croissance (épitaxie),
- de modification des propriétés physiques (implantation ionique, diffusion),
- de masquage (photolithographie),
- de gravure (gravure humide ou sèche).

Ces techniques appliquées au GaAs sont détaillées dans plusieurs ouvrages dont ceux référencés [12] et [13]. Par combinaison des précédentes techniques, il est possible d'obtenir des formes variées menant à l'élaboration de structures complexes. On peut dès lors distinguer les usinages surfaciques de ceux en volume suivant si le retrait de matière est opéré sur une couche déposée à la surface du substrat ou directement dans l'épaisseur du matériau. Nous nous intéresserons particulièrement à l'élaboration de structures micromécaniques telles que des leviers, des ponts ou des membranes. Pour ce type d'élément, nous différencierons les usinages « face avant » de ceux « face arrière » suivant si la structure finale est obtenue en gravant respectivement par le côté « dispositif » ou en libérant la structure via une attaque profonde à partir de la face opposée.

3.1.1 Les différents types de substrat

L'arséniure de gallium est généralement conditionné sous forme de wafer de diamètre 2, 3 ou 4 pouces (environ 50, 75 ou 100mm) et d'épaisseurs pouvant aller de 350 μ m (2") à 625 ou 635 μ m (4"). Les wafers sont découpés à partir d'un lingot suivant une direction cristalline particulière. La surface du wafer correspond donc à un plan cristallin particulier. L'orientation dans le plan du wafer est assurée par un ou deux méplat(s) ou entaille(s) situé(e)(s) sur le contour du disque.

Vail et al. [21] utilisent cette technique pour réaliser des micropoutres en utilisant une couche AlGaAs épitaxiée comme couche d'arrêt et une couche de GaAs comme couche sacrificielle. Dans cet exemple, la couche de GaAs est en position interstitielle entre deux couches de AlGaAs. Après une structuration par photolithographie, une gravure sèche anisotrope permet de créer une ouverture jusqu'à la couche de GaAs. Puis grâce à l'utilisation d'une gravure sèche isotrope et sélective $\text{SF}_3/\text{SiCl}_4$, la couche de GaAs est retirée laissant apparaître les poutres en AlGaAs (Figure 3.3 A). A l'inverse, des poutres suspendues de GaAs sont fabriquées grâce à l'utilisation d'une couche sacrificielle $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$ gravée sélectivement dans un bain d'acide fluorhydrique [22, 23] (Figure 3.3 B).

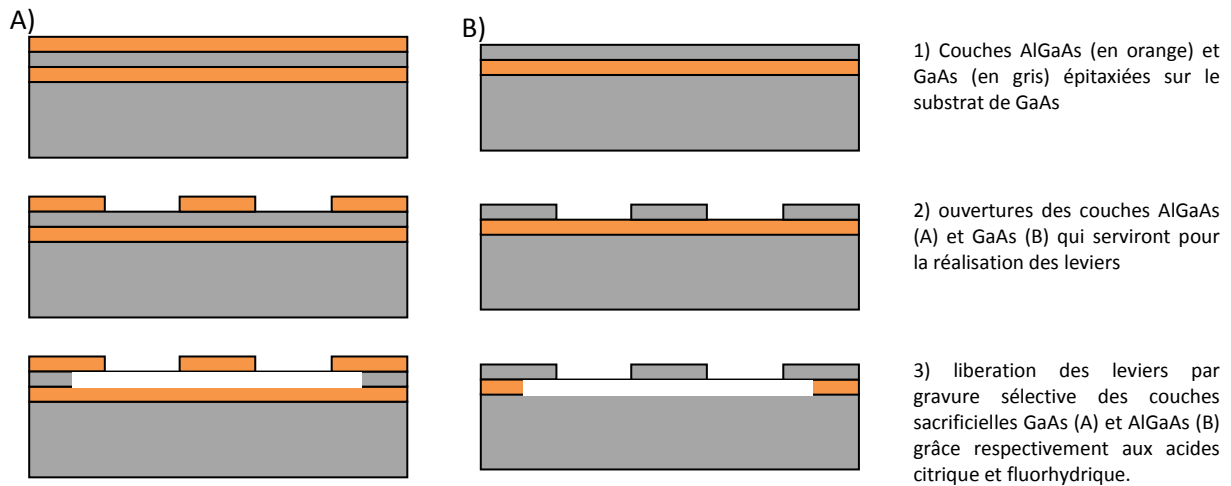


Figure 3.3 – Réalisation par usinage surfacique de leviers de AlGaAs (A) et GaAs (B) par dépôt de couches épitaxiées GaAs (en gris) et AlGaAs (en orange)

3.1.3 Usinage en volume du substrat

L'usinage en volume du matériau est très utilisé pour la réalisation de structures suspendues telles que des membranes ou des poutres. Deux types d'approches peuvent être considérés, l'usinage de structure par la face avant, par la face arrière ou par combinaison des deux.

3.1.3.1 Usinage face avant

Une technique originale a été développée par Miao et son équipe [24-28] afin de réaliser des couches sélectives par dopage de l'arséniure de gallium en implantant à forte énergie des atomes d'azote dans le substrat de GaAs, formant ainsi une couche $\text{GaAs}_{1-x}\text{N}_x$.

En implantant localement des ions azote à une profondeur déterminée par l'énergie d'implantation, Frick et al. [29] créent une couche $\text{GaAs}_{1-x}\text{N}_x$ après recristallisation du matériau grâce à un recuit. Après photolithographie, ils gravent le matériau afin d'atteindre cette couche. Puis, par gravure sélective, la couche implantée est retirée faisant apparaître des leviers suspendus en arséniure de gallium (Figure 3.4 A). Avec la même technique, ils créent une zone endommagée par l'implantation mais ne réalise pas de recuit comme lors du précédent exemple. La zone désorganisée est alors hautement sélective et sert de couche sacrificielle pour libérer un diaphragme de Si_3N_4 avec une solution $\text{KI}:\text{I}_2:\text{H}_2\text{O}$ (Figure 3.4 B).

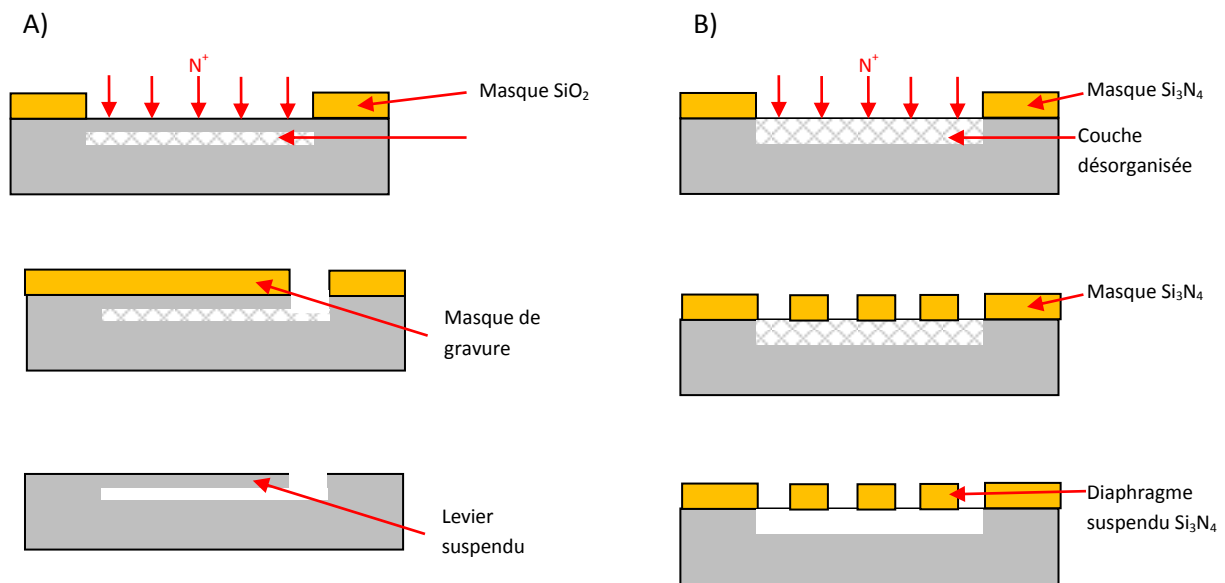


Figure 3.4 – Fabrication de structures suspendues par implantation ionique (A) ou par destruction (B) d'une couche sélective .

Plus récemment, en conservant la même technique d'implantation mais cette fois en utilisant la différence de conductivité entre le substrat dopé n et la couche implantée semi-isolante, Miao et al [27] réalisent des membranes suspendues grâce à l'usinage électrochimique. Une membrane de $3\mu\text{m}$ d'épaisseur a pu être obtenue (Figure 3.5 A). De plus, une plus grande amplitude de mouvement de la membrane suspendue est possible grâce à l'ondulation des bras supportant la structure, ondulation réalisée par une étape de gravure anisotrope avant l'implantation ionique (Figure 3.5 B et C). L'ondulation de ces membranes sert à accroître la sensibilité d'un microphone.

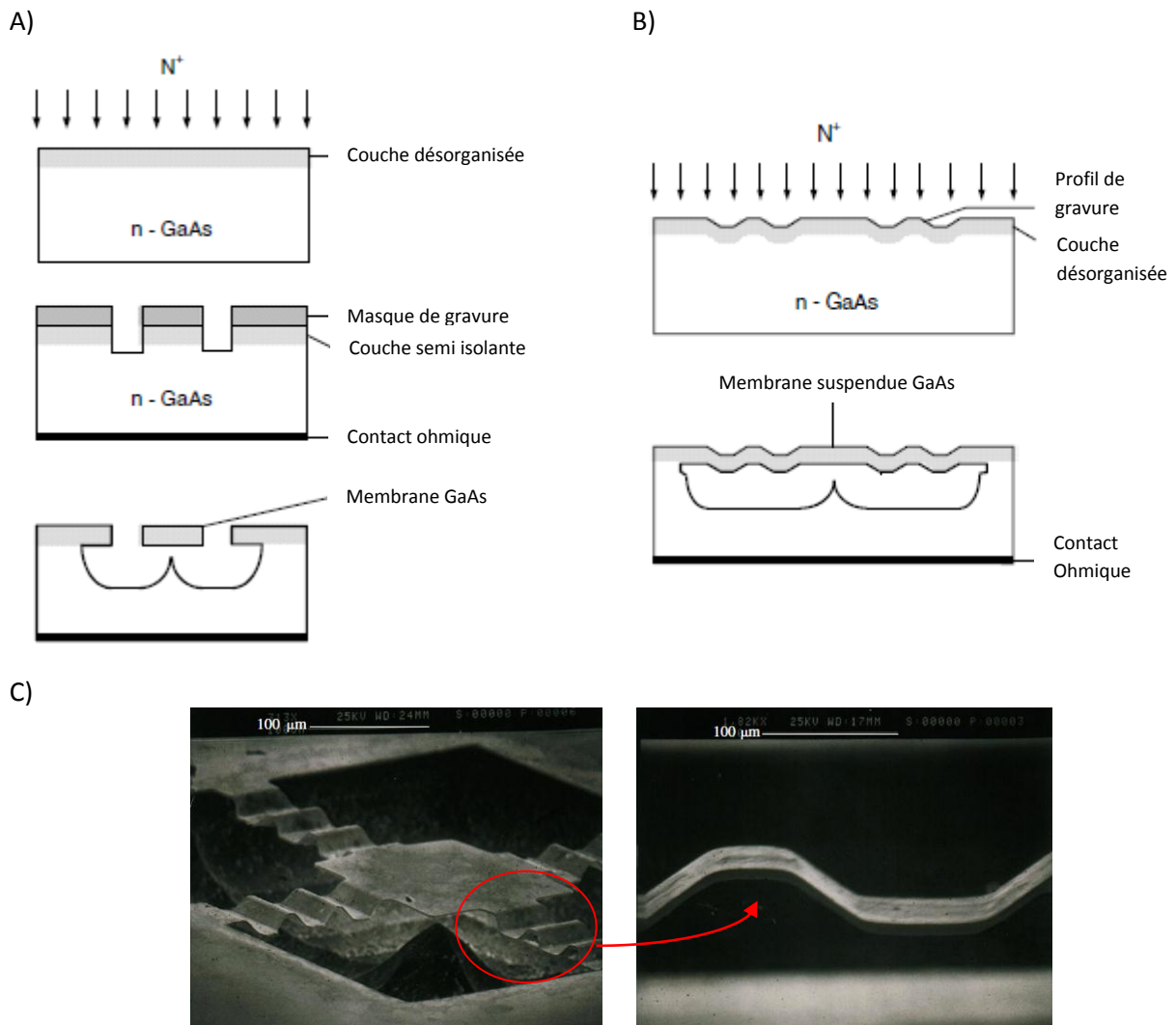


Figure 3.5 – Réalisation de membrane suspendue par combinaison de gravure anisotrope, implantation ionique, gravure non sélective et gravure électrochimique sélective. Membrane simple suspendue (A), Membrane suspendue par des bras ondulés (B et C) [27].

La croissance par épitaxie est aussi utilisée pour la réalisation de structures massives. Uenishi et al [30] utilisent la sélectivité d'une couche de AlGaAs pour réaliser des micropoutres. Ribas et al. [31] utilisent ce même principe pour développer des micropoutres à section triangulaire en utilisant les propriétés d'anisotropie particulières du GaAs (Figure 3.6).

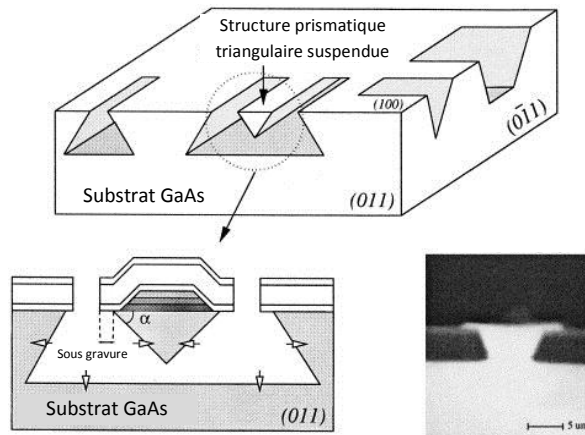


Figure 3.6 - Micropoutre à section triangulaire réalisée par gravure humide anisotrope [31].

3.1.3.2 Usinage face arrière

La gravure face arrière est généralement utilisée pour retirer la quasi-totalité de l'épaisseur du substrat afin de libérer l'élément actif. Du fait de la profondeur importante de cet usinage, il est dans la plupart des cas associé à une couche d'arrêt réalisée par épitaxie (figure 3.7 A). Un masquage de la face arrière ainsi que des techniques de photolithographie double face sont nécessaires pour aligner les motifs de la face avant avec cet usinage. Cette technique est principalement utilisée pour la réalisation de membranes en GaAs pour des capteurs de pression [15, 32].

Une autre méthode utilisée pour la fabrication de membranes consiste à réaliser un trou permettant de contrôler l'épaisseur usinée. Un trou d'une profondeur identique à l'épaisseur désirée de la membrane est dessiné sur la face avant. Lorsque l'usinage face arrière atteint le trou, c'est-à-dire le trou devient débouchant, alors l'épaisseur de membrane est celle désirée. La gravure est alors stoppée. Par cette technique, la membrane peut être plus épaisse qu'une membrane obtenue par des techniques utilisant des couches d'arrêt, mais l'homogénéité de la gravure est généralement moins bien contrôlée [15] (figure 3.7 B).

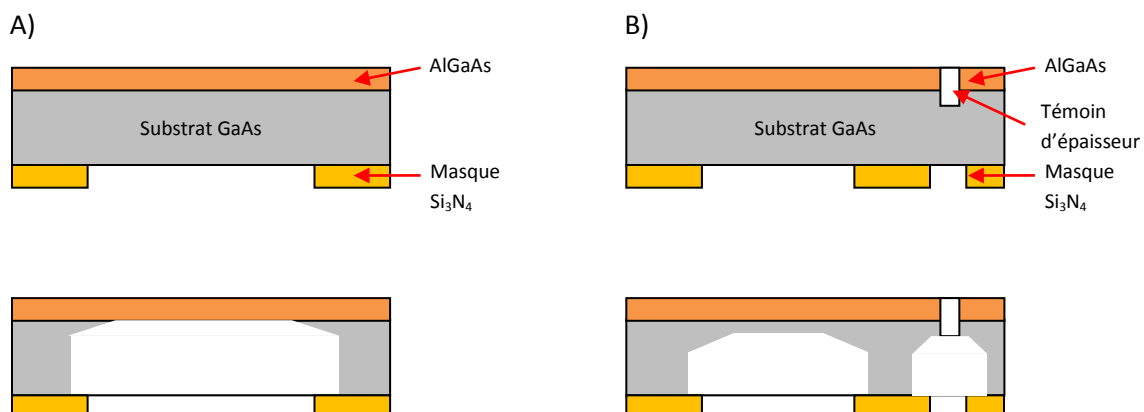


Figure 3.7 –Usinage massif du GaAs par une approche face arrière a) en utilisant une couche d'arrêt AlGaAs et b) en utilisant un témoin d'épaisseur.

3.1.3.3 Usinage combiné face avant et arrière

Des systèmes complexes peuvent combiner à la fois des usinages face avant et face arrière (figure 3.8). Deux exemples sont donnés ci-dessous. Miao et al [24] combinent à la fois une gravure sélective face avant après implantation ionique et une attaque sélective face arrière pour libérer une membrane AlGaAs/GaAs. Cette structure est la base d'un capteur de pression capacitif.

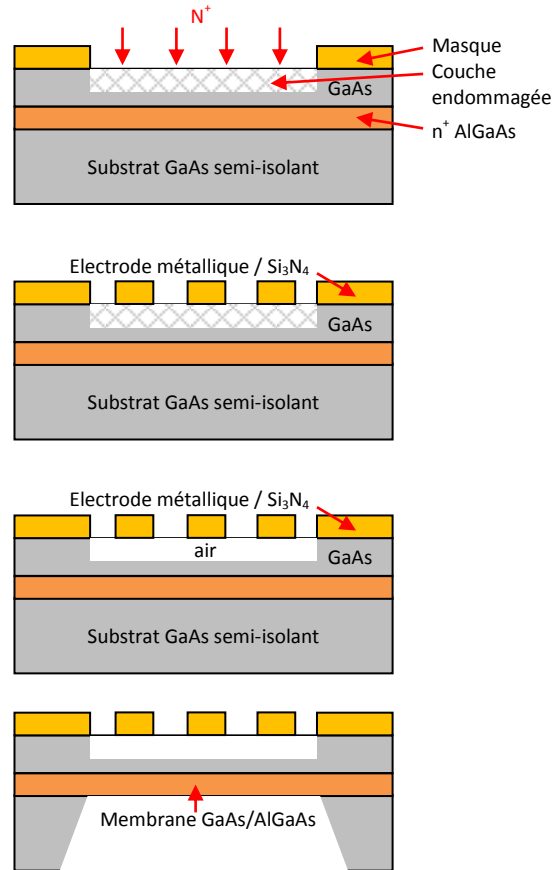


Figure 3.8 - Exemple de gravure massive double face : structure d'un capteur de pression capacitif [24].

3.1.4 Combinaison des deux précédentes techniques

Comme le montre Hascik et al [33] (figure 3.9), des gravures surfaciques et en volume peuvent être combinées pour la réalisation de structures. Après avoir fait croître une bicouche GaAs/AlGaAs par épitaxie, une première gravure sèche CCl_2F_2 face avant vient dessiner les contours de la membrane. Ensuite, une seconde gravure sèche CCl_2F_2 face arrière, stoppée par la couche d'arrêt AlGaAs, vient dégager la structure membranaire. La couche d'AlGaAs est ensuite retirée pour faire apparaître la membrane de GaAs. Cette membrane est alors l'élément sensible d'un capteur de gaz.

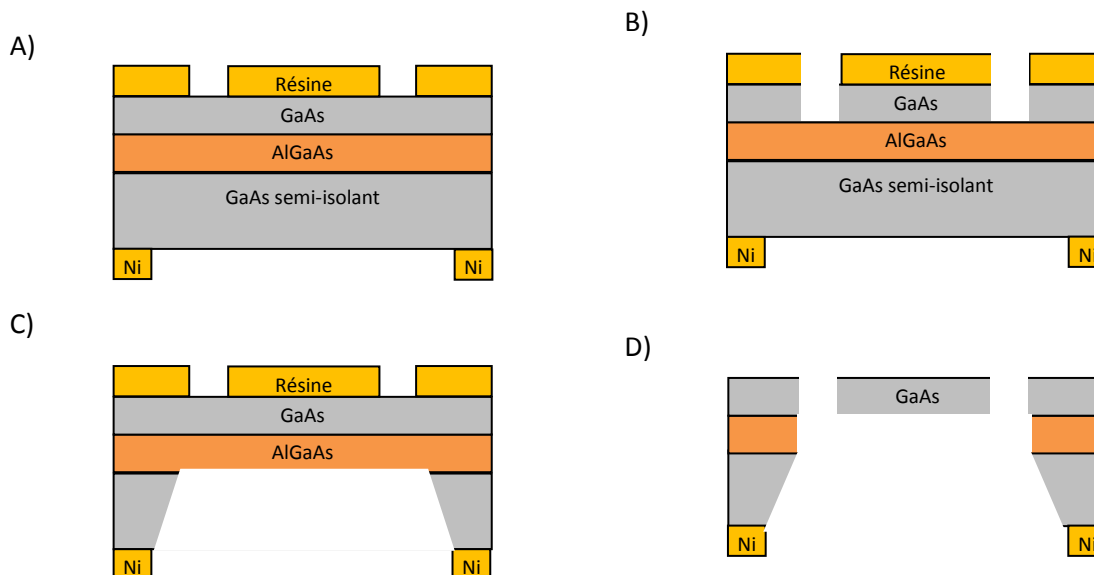


Figure 3.9 - Combinaison de gravure surfacique et massive pour la réalisation de membrane suspendue utilisée dans un capteur de gaz [33] : A) préparation des masques, B) Gravure sèche surfacique des contours membranaires, C) Gravure sèche massive du substrat GaAs et D) suppression du masque de résine et de la couche d'arrêt AlGaAs.

3.1.5 Choix des techniques d'usinage utilisées pour la fabrication du biocapteur

La structure de notre biocapteur ne permet pas un usinage en volume par la face avant et seule une gravure massive via la face arrière va permettre de fabriquer la structure membranaire. La dimension fondamentale de notre capteur est son épaisseur car c'est elle qui va déterminer la fréquence de résonance de travail. Si une modification de la valeur absolue de l'épaisseur peut être compensée en travaillant à une fréquence différente, les variations d'épaisseur de la membrane, la rugosité ou les défauts sur la surface vont engendrer un fort amortissement des ondes acoustiques générées et provoquer une baisse très significative du facteur de qualité de notre résonateur. Il convient donc de maîtriser la planéité, les divers défauts de forme et les conditions de l'attaque afin que la structure obtenue ait une épaisseur proche de celle espérée et surtout qu'elle ne possède aucun défaut.

D'après ce que nous avons vu précédemment, les techniques utilisant une couche d'arrêt semblent être le meilleur choix car, du fait de leur grande sélectivité, elles garantissent une planéité très intéressante. Cependant, les techniques énoncées précédemment ne permettent pas d'obtenir des membranes épaisses. Par épitaxie, afin de conserver des propriétés piézoélectriques intéressantes pour la couche de GaAs, l'épaisseur de la couche ne doit pas dépasser 2 μm . Au-delà, la structure caractéristique du GaAs n'est plus assurée et conduit à la diminution des performances électromécaniques de la couche. De plus, la faible résistance mécanique d'une membrane de 2 μm d'épaisseur ne supporterait certainement pas des variations de pressions importantes à l'intérieur de la cellule fluide ce qui conduirait à la rupture de cette membrane.

Porté cependant par des perspectives de capteur extrêmement sensible du fait de la haute fréquence de travail et du bon facteur de qualité, une structure réalisée avec ces techniques est en cours de réalisation. Ainsi, une étude collaborative avec l'IEMN à Lille a été entreprise et la fabrication d'un dispositif est en cours. En se fiant à leur expertise, nous avons utilisé une couche d'arrêt $\text{In}_x\text{P}_y\text{Ga}_{1-x}\text{As}_{1-y}$ recouverte d'une couche de GaAs de 2 μm d'épaisseur. La structure est réalisée

par une attaque massive face arrière, stoppée par la couche $\text{In}_x\text{P}_y\text{Ga}_{1-x}\text{As}_{1-y}$. Une gravure sélective permet ensuite de retirer cette couche $\text{In}_x\text{P}_y\text{Ga}_{1-x}\text{As}_{1-y}$ et faire apparaître une membrane de GaAs. Le schéma de principe de la structure est donné dans la figure ci-dessous.

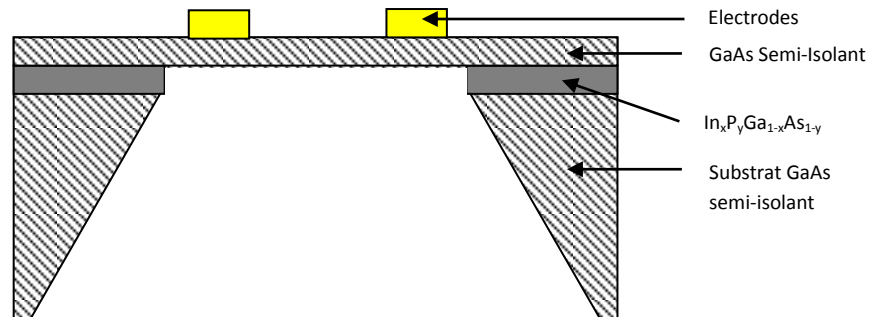


Figure 3.10 - Schéma de principe de la structure du capteur usiné par gravures sélectives de couche sacrificielle.

La structure présentée précédemment n'est cependant pas la principale voie de réalisation de notre biocapteur. L'axe principal de nos recherches est orienté vers la réalisation d'une membrane relativement épaisse dont la planéité est assurée uniquement par la maîtrise du procédé de gravure utilisé. La résolution latérale de notre capteur ainsi que la forme des profils ne sont pas des facteurs critiques pour la réalisation de notre structure justifiant l'utilisation d'un procédé de gravure sèche. De plus, afin de conserver des objectifs de réalisation à bas coût et de production à grande échelle, nous avons opté pour un usinage par gravure humide.

Le procédé de gravure humide, d'une grande facilité de mise en œuvre, est cependant une méthode de gravure difficile à parfaitement maîtriser du fait du grand nombre de facteurs mis en jeu lors de ce procédé chimique. La combinaison des différents réactifs utilisés, de leurs concentrations, des propriétés du substrat ainsi que des facteurs environnants (notamment la température) sont autant de paramètres influents. Ils génèrent ainsi des formes tridimensionnelles d'usinage spécifiques, une microstructuration des surfaces ainsi que des propriétés surfaciques spécifiques au matériau.

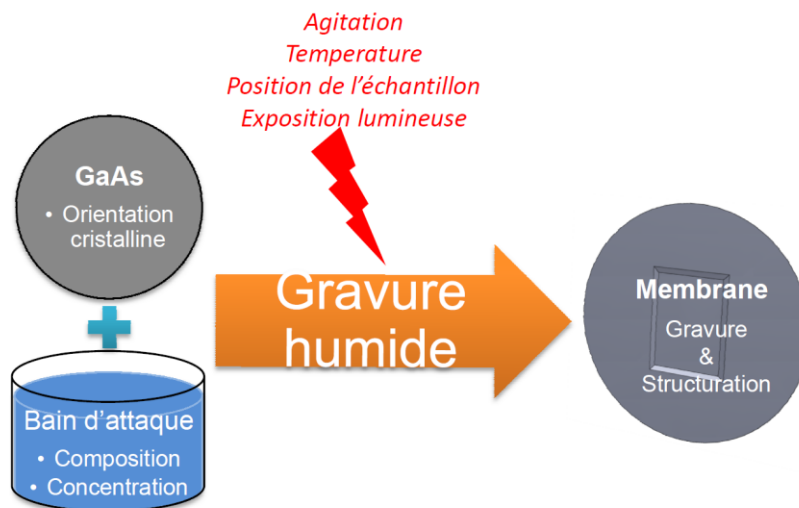


Figure 3.11 – Processus de gravure humide et paramètres influençant la réaction pour la réalisation d’une membrane aux propriétés géométriques et surfaciques particulières

La maîtrise des dimensions et des propriétés surfaciques de notre dispositif ne peut se faire sans une étude approfondie du processus de gravure. Nous verrons donc dans un premier temps les mécanismes chimiques de la gravure humide et les paramètres influents. Nous vérifierons ensuite par une étude expérimentale le comportement de différentes solutions d’attaques et l’influence des conditions environnementales sur l’usinage. Nous établirons par la suite les différentes phases de fabrication de notre biocapteur menant à la réalisation d’une structure aux propriétés géométriques maîtrisées. Nous essayerons aussi de développer une structuration micrométrique et nanométrique particulière de la surface afin d’optimiser [34, 35] le greffage de biomolécules sur la surface sans atténuer la transmission des ondes vibratoires [36-38].

3.2 Gravure humide de l’arséniure de gallium

3.2.1 Cinématique de la gravure humide

La gravure humide consiste à immerger un échantillon à usiner dans une solution d’attaque. La gravure du matériau se déroule en deux étapes : une oxydation de la surface suivie d’une dissolution de l’oxyde (insoluble dans l’eau) grâce à un agent complexant, un acide ou une base. Ces deux réactions sont d’ailleurs utilisées par DeSalvo et al. [39] pour réaliser des étapes successives d’oxydation et de dissolution permettant un usinage précis couche par couche.

Les différents mécanismes de la gravure humide du GaAs peuvent suivre le modèle schématisé par la Figure 3.12 qui consiste en :

- une adsorption de l’agent oxydant et une diffusion au travers de la couche oxydée jusqu’à l’interface oxyde-GaAs,

- une réaction d'oxydation entre l'agent oxydant et les atomes présents à la surface du matériau
- une adsorption des composants acides ou basiques dans la couche oxydée
- la formation de complexes et la solubilisation sous l'effet de l'acide ou de la base
- la désorption et évacuation des complexes dissous.

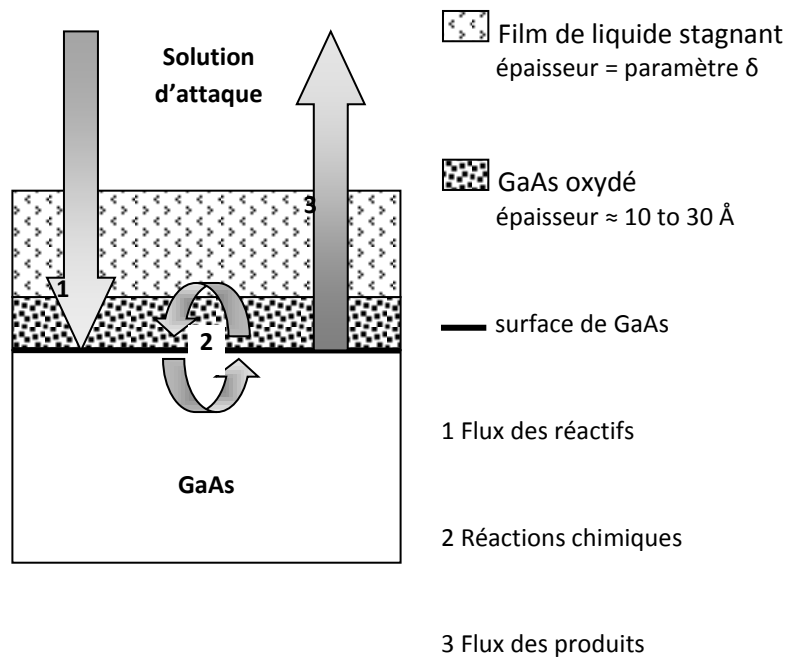


Figure 3.12 - Cinématique du processus de gravure humide

La Figure 3.12 met en évidence les deux facteurs limitant qui vont conditionner la vitesse d'attaque du matériau :

- d'un côté, elle sera limitée par les vitesses des réactions chimiques d'oxydation et de dissolution. On dira alors que le processus est de type « réaction limitée »
- de l'autre, elle sera limitée par le transport des réactifs vers la surface et des produits vers la solution. Dans ce cas, le processus est de type « diffusion limitée ».

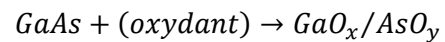
Il convient donc d'étudier les réactions se produisant entre la solution d'attaque et le GaAs. Baca et Ashby [13] donnent les réactions globales d'oxydation et de dissolution ainsi que les vitesses correspondantes. Ces deux réactions peuvent être vues, et le sont expérimentalement, comme une réaction globale dont la cinétique suit une loi d'Arrhenius, que l'on retrouve généralement sous la forme :

V : vitesse d'attaque ($\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$) ou de dissolution
 A : Constante ($\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$)
 k : Constante de Boltzmann ($8.31 \text{ J}.\text{mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$)
 E_a : Energie d'activation ($\text{J}.\text{mol}^{-1}$)
 T : Température (K)

$$V = A \times e^{\frac{-E_a}{kT}}$$

Cette réaction globale inclue donc :

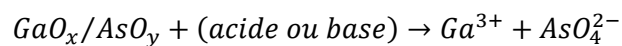
- la réaction d'oxydation



$$V_{ox} = A_{ox} [oxydant]^m (GaAs) e^{-\frac{E_{ox}^*}{kT}}$$

Où

- [oxydant] représente la concentration en oxydant
- m est dépendant du nombre de molécules d'oxyde (x et y) mises en jeu lors de l'oxydation d'un atome de gallium ou d'arsenic
- (GaAs) est la densité d'atomes Ga ou As exposés
- La dissolution par un acide ou une base de l'oxyde de surface précédemment formé sous forme d'ions Ga^{3+} et AsO_4^{2-} :



$$V_{diss} = A_{diss} [acide ou base]^n (oxyde) e^{-\frac{E_{diss}^*}{kT}}$$

Où

- [acide ou base] représente la concentration en acide ou base
- n est dépendant au nombre de H^+ (dans la cas d'un acide) ou OH^- (dans la cas d'une base) mis en jeu dans la réaction la plus lente de dissolution
- (oxyde) est la concentration effective des espèces oxydées présentes en surface qui ont la vitesse de dissolution la plus lente

Pour que la vitesse de gravure soit définie par la vitesse des réactions chimiques, c'est à dire que le processus de gravure soit de type « réaction limitée », il faut que l'approvisionnement en réactif soit suffisant. Si ce n'est pas le cas, la réaction bascule vers un comportement de type « diffusion limitée ». Les cinétiques des réactions chimiques sont alors lentes et la vitesse à laquelle les espèces réactives atteignent la surface est prépondérante. La vitesse à laquelle les réactifs arrivent à la surface est régie par la loi de Fick [40] :

$$\frac{dn}{dt} = DS \frac{c}{\delta}$$

S : surface en contact avec la solution (m^2)

D : coefficient de diffusion ($m^2.s^{-1}$)

c : concentration des espèces présentes en solution ($mol.m^{-3}$)

δ : épaisseur du film stagnant (m)

La gravure humide du GaAs combine donc des processus de transport de molécules de la solution vers la surface et des réactions chimiques entre la solution d'attaque et le matériau [40-46]. Le comportement du processus de gravure va donc dépendre de l'importance relative de ces deux termes respectifs. Chaque réaction peut potentiellement être de type « réaction limitée » ou « diffusion limitée » et va dépendre du terme dominant le processus de gravure. Dans des conditions normales (sans agitation ou faible agitation, température ambiante), si l'énergie d'activation de la réaction est plus faible que 5 kcal.mol^{-1} alors la réaction sera probablement limitée par la diffusion des espèces tandis qu'une énergie d'activation supérieure à 8 kcal.mol^{-1} engendrera vraisemblablement une réaction de type « réaction limitée ». Kulkarni et Erk [44] proposent par ailleurs un modèle simplifié de ce mécanisme en faisant une analogie avec des résistances. L'attaque chimique est vue comme une « résistance équivalente » à la résistance induite par le transport en série avec la résistance des réactions chimiques.

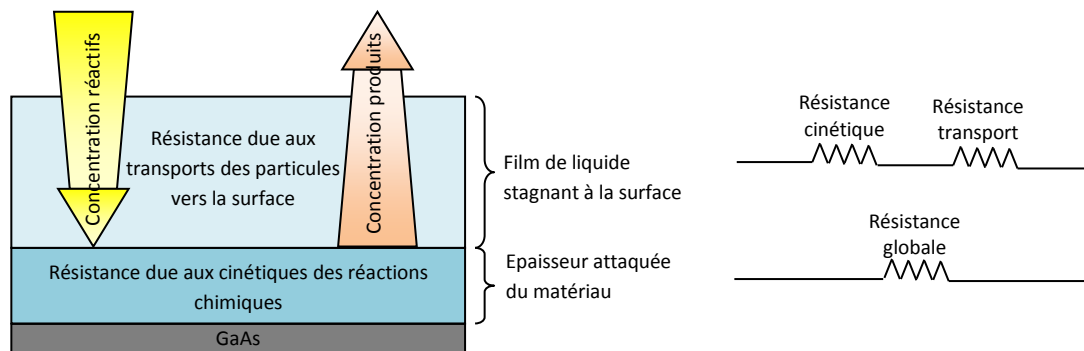


Figure 3.13 - Représentation schématique de l'influence du transport et des réactions chimiques sur la cinétique du processus de gravure global [44].

3.2.2 Comportements des réactions et paramètres influents

D'après les précédentes explications et pour une solution d'attaque donnée (composition, concentration), il est dans la plupart des cas possible de basculer d'un mode dominant à l'autre en faisant varier la température ou l'agitation. Si le transport des réactifs limite la réaction, l'attaque est indifférente à l'orientation cristalline alors que si la réaction est limitée par des cinétiques réactionnelles, l'attaque dépendra fortement de l'orientation cristalline. Cette différence est induite par la différence de densité d'atomes en surface, du ratio Ga / As, des liaisons existantes entre la surface et le bulk mais aussi aux liaisons pendantes existantes à la surface du matériau.

3.2.2.1 Diffusion contrôlée : attaque isotrope

Dans le cas d'une réaction « diffusion contrôlée », le terme exponentiel $e^{-\frac{Ea}{kT}}$ est de moindre importance comparativement aux transports des espèces réactives. La vitesse de gravure est donc relativement insensible à la température mais sera par contre fortement modifiée si la mobilité des espèces augmente. Cette mobilité, initialement de $10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ dans un liquide au repos [47], peut être augmentée en agitant la solution grâce à un plateau rotatif, un agitateur magnétique ou encore un bac à ultrasons. Si on augmente suffisamment la mobilité des électrons, la diffusion ne sera plus prédominante et le comportement de la réaction passera progressivement vers une solution de type « réaction limitée ». La viscosité de la solution peut aussi être modifiée afin de contrôler le déplacement des espèces. Ainsi une forte concentration en acide ou base, plus visqueux que l'eau ou l'agent oxydant, augmente l'épaisseur du film stagnant à l'interface liquide-solide et diminue la mobilité des espèces dans cette zone. De même, la dilution des réactifs permet au contraire de passer vers une réaction de type « réaction limitée ».

Dans le mode de réaction « diffusion limitée », la structure du plan cristallin n'a pas d'influence sur l'usinage. Les réactions chimiques étant beaucoup plus rapides que la mobilité des molécules, la gravure sera indifférente aux plans cristallins (type d'atome et densité) exposés. Ce processus a été modélisé [48-50] est vérifié expérimentalement [51]. La vitesse de gravure est donc constante quelque soit la direction cristalline que l'on regarde. On dit alors que la gravure est isotrope. Le profil est alors semi-circulaire de rayon égal à la profondeur usinée. La sous-gravure est donc importante. De plus, du fait d'un gradient de concentration, nous observons souvent une gravure plus importante sur les bords des motifs.

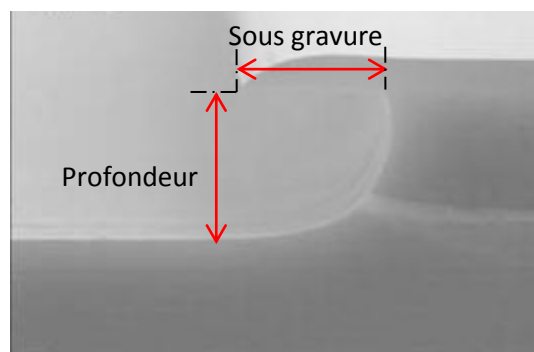


Figure 3.14 – Profil obtenu par gravure humide isotrope [13].

Du fait de l'importante viscosité généralement rencontrée, qui induit une vitesse de mobilité réduite des espèces chimiques, l'épaisseur du film de liquide stagnant à l'interface solide-liquide est plus importante que les pics des motifs de rugosité. Ainsi, si les motifs de rugosité sont compris à l'intérieur de ce film visqueux où les particules ont du mal à se déplacer, les pics seront attaqués avant les sillons et donc la surface aura tendance à s'aplanir [44].

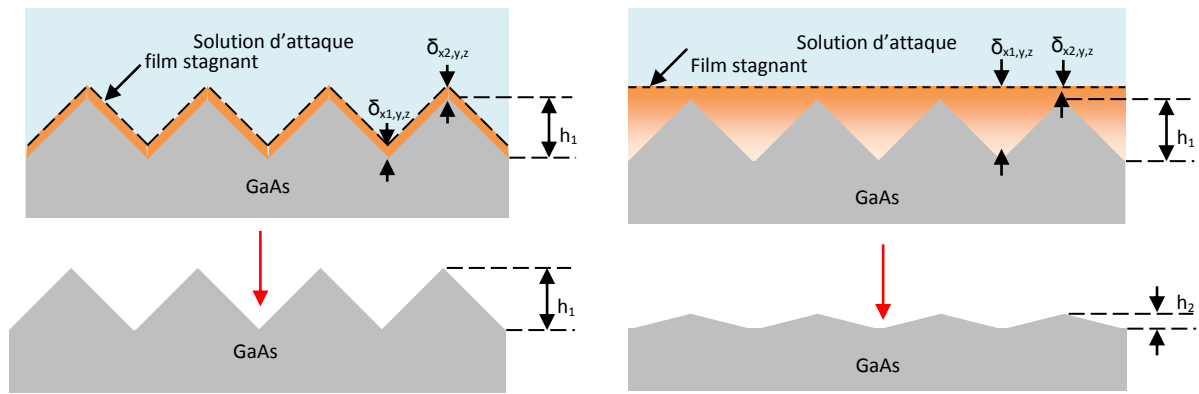


Figure 3.15 - Effet du film visqueux sur une surface rugueuse lors de la gravure humide [44]

3.2.2.2 Réaction contrôlée : attaque anisotrope

Dans le cas d'une « réaction contrôlée », la cinétique des réactions chimiques est dominante sur les cinétiques de transport. Le terme exponentiel $e^{-\frac{Ea}{kT}}$ régit le comportement de la solution. La température lors de l'attaque est d'une importance capitale puisqu'elle fait varier la vitesse d'attaque de manière exponentielle. La vitesse de la réaction peut être augmentée jusqu'à ce que les cinétiques de transport deviennent prédominantes. L'attaque bascule alors vers une attaque de type diffusion limitée.

Dans ce type de réaction, la vitesse de gravure est limitée par les cinétiques d'oxydation des atomes Ga / As et de dissolution des composés oxydés GaO_x/AsO_y . Suivant le plan cristallin étudié, la densité atomique, le ratio Ga/As mais aussi le nombre de liaisons entre la couche de surface et le matériau massif (bulk) sont différents et vont conduire à des vitesses d'usinage différentes. La gravure est donc anisotrope.

Comparativement au silicium, la structure du GaAs est identique mais constituée de deux types d'atomes qui vont conduire à la formation de plans bloquants particuliers. Le plan (111), de densité atomique important, est comme pour le silicium un plan bloquant. Cependant, suivant la face étudiée, les atomes exposés seront uniquement des atomes de gallium ou d'arsenic (cf section 3.1.1).

Du fait de la plus grande réactivité du plan (111)B, des profils rentrants sont communément obtenus pour des structures orientées perpendiculairement à la direction $\langle 011 \rangle$ sur un wafer GaAs (100) (section (011)). A l'inverse, les profils des motifs alignés parallèlement à la direction $\langle 011 \rangle$ (section $(01\bar{1})$) sont sortants et forment un angle $\theta=54.7^\circ$ avec le plan (100). Le plan (111)A fait donc partie des plans bloquants et va en partie conditionner la forme tridimensionnelle des motifs obtenus.

Par exemple, Adachi et al. [52] montrent l'évolution des vitesses d'attaque et les variations de profils obtenus pour l'usinage de GaAs (100) dans une solution $3 K_2Cr_2O_7 : 1 H_2SO_4 : 2 HCl$ (ratio exprimé en volume). Sous agitation constante, cette solution attaque alors le plan (100) à une vitesse de $20 \mu m.min^{-1}$ à $60^\circ C$. Pour une température de $25^\circ C$, la vitesse de gravure chute à $2.5 \mu m.min^{-1}$. Les

profils obtenus dans les sections droites (011) et (01 $\bar{1}$) pour ces deux températures sont donnés dans la Figure 3.16.

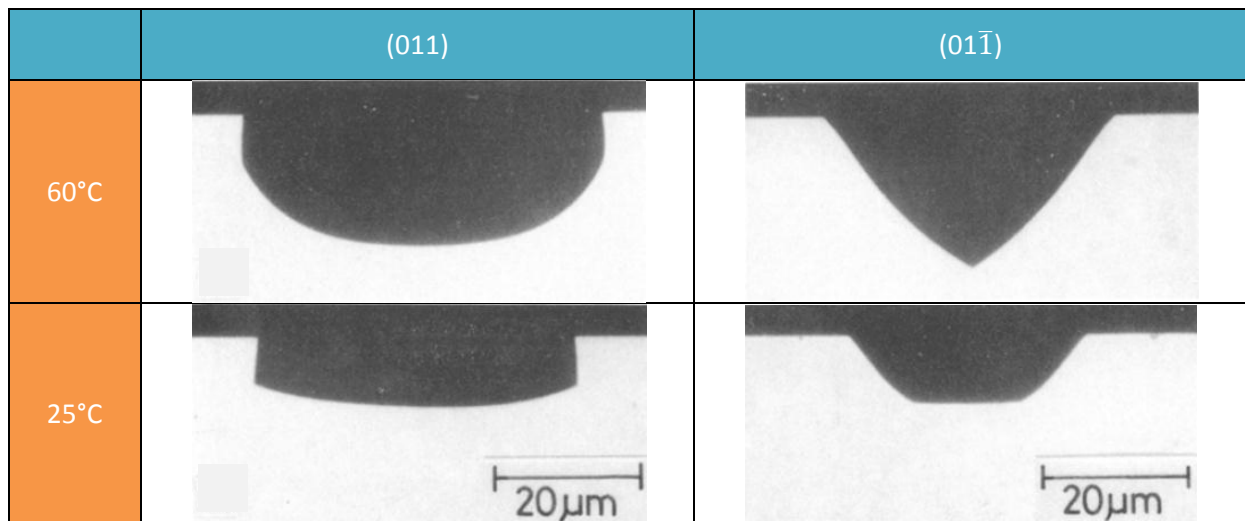


Figure 3.16 - Evolution des sections droites (011) et (01 $\bar{1}$) pour une attaque du GaAs avec une solution 2 HCl : 1 H₂SO₄ : 3 K₂Cr₂O₇ à 60°C et 25°C [⁵²]

Sur les images précédentes, nous voyons que les profils ne sont pas identiques. Les profils plus arrondis à 60°C montrent que nous sommes en train de basculer vers une réaction isotrope bien que cette réaction ne le soit pas encore du fait du sillon encore bien prononcé dans le plan (01 $\bar{1}$) et de la différence de largeur des deux motifs. A 25°C, nous observons un comportement anisotrope (plan cristallin bien marqué) mais le fait que l'agitation permette une variation de vitesse de 1.7 $\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ à 2.5 $\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ montre que les cinétiques de transport, bien que minoritaires, influencent tout de même la réaction.

Comparativement au silicium, le taux d'anisotropie pour le GaAs est beaucoup moins marqué (généralement entre 2 et 5 pour le GaAs contre 100 et 1000 pour le silicium). Les vitesses de gravure sont généralement plus importantes ce qui induit une baisse en température des bains utilisés, généralement à température ambiante.

Comme imagée sur la Figure 3.15, la rugosité initiale sera conservée grâce à la bonne circulation des réactifs et produits. Cependant, du fait des différences de vitesse de dissolution suivant l'orientation considérée, une microstructuration particulière peut apparaître. Les motifs générés sont alors très divers tant en forme qu'en amplitude et dépendront à la fois de la solution d'attaque (composition, concentration) mais aussi de la face du substrat attaquée.

3.2.3 Composition d'une solution d'attaque

La solution d'attaque est constituée

- d'un oxydant (Br_2 [53], H_2O_2 [54], $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ [52], CrO_3 [40]) qui oxyde la surface sur quelques nanomètres,
- d'un ou plusieurs [52, 55] acide(s) (H_2SO_4 [42, 45], H_3PO_4 [46], HF [56, 57], HCl [58]) acide citrique[19], HNO_3 [59], acide succinique [55]) ou d'une base (NaOH [60], NH_4OH [61]) qui permettent de dissoudre l'oxyde précédemment formé,
- d'un diluant (H_2O [43], CH_3OH [53]), facultatif, qui facilite la mobilité des molécules et fait varier les taux de dissolution de manière importante [43, 62].

Les solutions acides sont généralement utilisées pour la gravure du GaAs, les solutions basiques étant plutôt réservées pour des traitements de surface. Parmi les acides, les plus utilisés sont l'acide phosphorique (H_3PO_4), l'acide sulfurique (H_2SO_4), l'acide citrique (HNO_3) et l'acide chlorhydrique (HCl). Les acides citrique et succinique sont aussi très employés mais sont réservés à la gravure sélective GaAs / AlGaAs. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'eau sont utilisés dans la majeure partie des solutions d'attaque. Les systèmes que nous retrouvons donc les plus communément sont X (H_3PO_4 ou H_2SO_4 ou HNO_3 ou HCl) : Y H_2O_2 : Z H_2O où X , Y et Z expriment la fraction volumique de la solution commerciale de chaque composé utilisé dans la solution finale. Nous conserverons ces notations au cours de ce chapitre.

Les réactifs utilisés vont conditionner le comportement de la réaction du fait qu'ils vont réagir plus ou moins activement avec le substrat. Les concentrations de chaque composant vont aussi fortement influencer la réaction, conférant un comportement de type réaction ou diffusion limitée suivant les ratios utilisés. Dans le cas d'une réaction de type « diffusion contrôlée », les solutions sont généralement très concentrées en acide et très peu diluées (ex 40 HCl : 4 H_2O_2 : 1 H_2O [63], 20 H_2SO_4 : 80 H_2O_2 [41], 1 HF : 3 CH_3COOH : 2.3 HNO_3 : 2.5 H_2O [57]).

Dans le cas d'une réaction de type « réaction limitée », le choix est beaucoup plus vaste. Suivant les réactifs utilisés et leurs concentrations, les profils obtenus ainsi que la rugosité de surface vont être bouleversés. Par exemple, Barycka et Zubel [41] montrent les variations de vitesse, de profil et de surface pour des solutions X H_2SO_4 : Y H_2O_2 : Z H_2O . Les variations de profils sont reportées Figure 3.17. D'après Baca et Ashby [13], la concentration en oxydant détermine la vitesse tandis que la concentration en acide détermine la forme des profils. De plus, une vitesse rapide obtenue grâce à une concentration en oxydant supérieure à 15%, confère à la surface une rugosité prononcée. Ces affirmations sont cependant dans de nombreux cas non vérifiées car il faut prendre en compte de nombreux paramètres pour estimer le comportement de gravure.

| H ₂ SO ₄ [vol%] | H ₂ O ₂ [vol%] | (110) |
|--|---|-------|
| 5 | 20 | |
| 20 | | |
| 30 | | |
| 40 | | |
| 50 | | |
| 60 | | |
| 20 | 20 | |
| | 50 | |
| | 80 | |

Figure 3.17 - Modification des sections d'un sillon aligné <011> sur un wafer GaAs (100) pour différentes concentrations d'acide sulfurique et de peroxyde d'hydrogène. L'usinage est réalisé sur une profondeur de 20µm, sans agitation et à température ambiante [41].

3.2.4 Présélection d'une solution d'attaque

Le procédé de gravure humide peut avoir un comportement très différent suivant la composition et la concentration du bain d'attaque, l'orientation cristalline de la surface à usiner ainsi que suivant les conditions d'agitation et de température. Nous limiterons notre étude à l'usinage de structures dans un wafer de GaAs orienté (100), utilisé pour la réalisation de notre transducteur. Les nombreux facteurs mis en jeu lors du processus de gravure humide rendent l'estimation des vitesses d'attaque ainsi que des microstructurations de surfaces très difficilement prévisibles. Il est nécessaire de valider le comportement des solutions recensées dans la bibliographie par une caractérisation expérimentale. Adachi et Oe [62] ont testé et recensé un grand nombre de solutions qu'ils ont classées suivant l'agent de dissolution utilisé : HCl, HNO₃, HCl : HNO₃, HBr, H₃PO₄, H₂SO₄, HF, Br₂, NH₄OH, NaOCl. Nous sommes partis de ces résultats pour faire une première sélection dans la multitude de bains possibles. Du fait de leur dangerosité, les bains à base de HF [64, 65] ont été éliminés. Les bains à base de HCl [40, 58, 64, 66], HCl : H₂SO₄ : H₂O₂ [64] ont dans la plupart des cas généré des bulles, dégradant irréversiblement la surface de l'échantillon et ont donc été retirés de la sélection. Après cette première sélection, une recherche bibliographique plus approfondie a été menée et nous a permis de sélectionner les systèmes suivant :

- HCl : H₂SO₄ : K₂Cr₂O₇ [52]
- H₂SO₄ : H₂O₂ : H₂O [41, 42, 45, 54, 64, 67-70]
- H₃PO₄ : H₂O₂ : H₂O [46, 58], H₃PO₄ : H₂O₂ : CH₃OH [65]
- HNO₃ : CH₃COOH : H₂O₂ [65], HNO₃ : H₂O₂ : H₂O [65]
- Br₂ : CH₃OH [64, 65]
- NH₄OH : H₂O₂ : H₂O [61, 64, 68, 71, 72].

Pour chaque système précédemment sélectionné, des comportements très différents peuvent être obtenus par combinaison multiple des concentrations des réactifs, offrant un nombre quasi infini de possibilités. Des bains isotropes à fortement anisotropes, des surfaces très lisses ou rugueuses peuvent être obtenus à partir d'une solution constituée des mêmes composés. De plus, les variations

des conditions extérieures vont modifier le comportement de ces réactions et offrir une large gamme de solutions pouvant convenir pour la fabrication de notre biocapteur. Dans un premier temps, nous avons fait une première sélection en étudiant le comportement des réactions à température ambiante (22°C, appelée par la suite Tambiant) et sans agitation. Les bains sélectionnés sont repris dans le Tableau 3.1.

| N° | Composition des bains |
|----|--|
| 1 | 1 H ₂ SO ₄ : 2 HCl : 3 K ₂ Cr ₂ O ₇ |
| 2 | 4%Br ₂ : CH ₃ OH |
| 3 | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ : 1 CH ₃ COOH |
| 4 | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ |
| 5 | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O |
| 6 | 1 H ₃ PO ₄ : 1 H ₂ O ₂ : 1 CH ₃ OH |
| 7 | 1 H ₃ PO ₄ : 1 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O |
| 8 | 7 H ₃ PO ₄ : 5 H ₂ O ₂ : 8 H ₂ O |
| 9 | 3 H ₃ PO ₄ : 1 H ₂ O ₂ : 6 H ₂ O |
| 10 | 1 H ₃ PO ₄ : 9 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O |
| 11 | 1 H ₂ SO ₄ : 8 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O |
| 12 | 1 NH ₄ OH : 1 H ₂ O ₂ : 8 H ₂ O |

Tableau 3.1 – Composition en volume des différentes solutions de gravure testées.

Pour l'amincissement du substrat, la propriété principale recherchée est une surface très peu rugueuse. Il faut en effet que la surface reste la plus plane possible et polie afin que cette étape ne perturbe pas la seconde étape de fabrication. Nous avons réalisé des tests sur des solutions déterminées à partir d'ouvrages bibliographiques. Deux types de réactions permettent d'obtenir des surfaces polies : des réactions rapides [^{53, 56, 65}] et des réactions lentes [⁷¹]. Parmi les réactions rapides, quelques-unes sont éliminées d'office pour des raisons de sécurité [^{53, 56, 65}], et d'autres car elles induisent des altérations sur la surface [⁴⁰]. Après avoir effectué une première sélection, nous avons retenu les 8 premières solutions du Tableau 3.1.

Le micro-usinage de la membrane requiert une forme 3D particulière et une maîtrise parfaite des conditions d'épaisseur et de planéité. Plusieurs études expérimentales [^{45, 62, 63, 73, 74}] montrent que les solutions 1 H₃PO₄ : 9 H₂O₂ : 1 H₂O et 1 H₂SO₄ : 8 H₂O₂ : 1 H₂O (solutions 10, 11 et 12 du Tableau 3.1) sont particulièrement adaptées à la réalisation de membranes carrées. Nous allons caractériser ces solutions et contrôler les paramètres extérieurs afin d'obtenir une structure adaptée à la réalisation d'un transducteur présentant une forme membranaire de haute sensibilité. Nous verrons aussi qu'une microstructuration particulière de la surface est possible et comment nous pouvons imaginer en tirer profit afin d'optimiser l'interface de biorecognition de notre dispositif (solution 9 à 12 du Tableau 3.1).

3.3 Caractérisations expérimentales des solutions de gravure

3.3.1 Protocole

Afin de déterminer les solutions et conditions idéales pour la réalisation de notre structure, il est nécessaire de caractériser les solutions d'attaque afin de connaître leurs vitesses de gravure et leurs comportements. Après un nettoyage drastique de la surface, nous effectuons une étape de photolithographie puis nous gravons les zones non protégées grâce aux diverses solutions.

1) nous mesurons la vitesse de gravure : la vitesse de gravure est obtenue en mesurant les profondeurs usinées (différence entre la zone protégée et la zone attaquée par la solution) à intervalle de temps régulier.

2) nous observons la topographie de surface par microscopie à force atomique (AFM) ou par microscopie électronique à balayage (MEB).

3.3.1.1 Nettoyage de la surface

Un procédé de nettoyage a été établi pour retirer les impuretés minérales et organiques présentes à la surface de l'échantillon. Les mesures sont réalisées sur des échantillons découpés à partir d'un wafer de GaAs (100) semi-isolant mais aussi suivant d'autres coupes cristallographiques (110), (111)A, (111)B, (211)A et (211)B. Le nettoyage est réalisé par immersions successives dans des bains de détergent (Decon®), d'acétone, d'acide sulfochromique (suppression des contaminations de surface) et d'éthanol. Le temps d'immersion est de 10 minutes sous agitation aux ultrasons sauf pour l'acide sulfochromique où l'échantillon est immergé 1 minute sans agitation. Sur quelques micromètres d'épaisseur, la structure cristalline de l'arséniure de gallium est désorganisée à cause du polissage mécanique de la surface. Cette couche doit être retirée afin d'atteindre la structure cristallographique organisée du GaAs de la coupe désirée. Le retrait de cette couche est réalisé par gravure humide dans un bain $7 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 5 \text{ H}_2\text{O}_2 : 8 \text{ H}_2\text{O}$ à température ambiante pendant 30 secondes.

3.3.1.2 Photolithographie

Les essais d'usinage sont réalisés sur des zones carrées de quelques millimètres de côté. Ces dimensions sont suffisantes pour observer la topographie de surface en dehors d'un éventuel effet de bord et pour que les cinétiques des réactions soient semblables à celles observées sur la structure. Les zones protégées sont recouvertes par une résine photosensible positive Shipley S1813. Les paramètres d'enduction permettent l'obtention d'une épaisseur de résine d'environ $1.3 \mu\text{m}$.

3.3.1.3 Caractérisations

Un profilomètre Dektak III (Veeco) est utilisé pour mesurer la profondeur de gravure obtenue. La topographie de la surface est caractérisée par microscopie électronique à balayage (MEB, Leica Electron Optic Stereoscan 440) et par microscopie à force atomique (AFM, Veeco multimode III) en mode contact, à l'air ambiant. Les pointes utilisées sont des Veeco NPS-10C, de rigidité $k=0.32 \text{ N/m}$, en nitrure de silicium. Les images AFM sont collectées à une fréquence de 2 lignes par seconde avec une résolution de 512 par 512 pixels.

3.3.1.4 Gravure humide

Les solutions de gravure sont obtenues par mélange volume à volume des solutions commerciales de chaque composé dont les concentrations massiques sont précisées entre parenthèse :

- les acides : phosphorique H_3PO_4 (85%), sulfurique H_2SO_4 (96%), nitrique HNO_3 (68%), chlorhydrique HCl (37%), acétique CH_3COOH (99.9%)
- une base : l'ammoniaque NH_4OH (25%),
- les agents oxydants : dibrome Br_2 , dichromate de potassium $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (solution saturée), peroxyde d'hydrogène (ou encore eau oxygénée) H_2O_2 (30%),
- les diluants : eau ultra pure H_2O , méthanol CH_3OH .

Le mélange des divers composants est toujours réalisé en incorporant successivement le ou les acides, l'agent oxydant puis le diluant. Toutes ces solutions sont préparées juste avant utilisation et en quantité suffisante afin que la réaction ne modifie pas de manière significative les concentrations des diverses solutions.

Pour ces premiers essais, les échantillons sont simplement déposés au fond du bécher, les motifs à usiner orientés vers le haut. Les différentes températures sont obtenues par immersion du bécher contenant la solution d'attaque dans la cuve d'un cryostat et le bain est faiblement agité par les ondulations de surface formées par la pompe. Une agitation par plateau rotatif est réalisée sur le bain n°1.

3.3.2 Vitesses de gravure des solutions dans le plan (100)

La caractérisation de la vitesse de gravure est une donnée importante car c'est elle qui va permettre d'estimer la profondeur gravée à partir de la connaissance de la durée de la gravure. Les dimensions du dispositif seront alors assurées et reproductibles uniquement si cette vitesse de gravure reste constante au cours du temps. Il faut donc veiller à ce que :

- Les réactifs soient présents en quantité suffisante afin que les variations de concentrations induites par la gravure profonde du matériau n'influencent pas de manière significative la cinétique de gravure,
- l'efficacité des réactifs ne diminue pas au cours du temps,
- le renouvellement des espèces en tout point de la surface de l'échantillon soit identique afin d'éviter des effets de bords ou des gradients de concentration,
- les conditions environnementales (température, agitation, lumière...etc...) soient maîtrisées,
- Les réactifs et échantillons utilisés soient identiques d'un essai à l'autre,
- aucun phénomène parasite ne perturbe l'usinage, comme par exemple la formation de bulle ou la perforation du masque protecteur (sélectivité entre le masque et le matériau).

3.3.2.1 Influence de la composition et de la concentration de la solution d'attaque

Les vitesses de gravure du GaAs (100) des différentes solutions obtenues à température ambiante et sans agitation sont reportées dans le Tableau 3.2.

| N° | Composition des bains | Vitesse de gravure ($\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$) |
|----|--|--|
| 1 | 1 H_2SO_4 : 2 HCl : 3 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ | 1.2 |
| 2 | 4% Br_2 : CH_3OH | / |
| 3 | 1 HNO_3 : 1 H_2O_2 : 1 CH_3COOH | 2.4 |
| 4 | 1 HNO_3 : 1 H_2O_2 | 8 |
| 5 | 1 HNO_3 : 1 H_2O_2 : 1 H_2O | 4 |
| 6 | 1 H_3PO_4 : 1 H_2O_2 : 1 CH_3OH | 0.7 |
| 7 | 1 H_3PO_4 : 1 H_2O_2 : 1 H_2O | 1.6 |
| 8 | 7 H_3PO_4 : 5 H_2O_2 : 8 H_2O | 3.10 |
| 9 | 3 H_3PO_4 : 1 H_2O_2 : 6 H_2O | 0.95 |
| 10 | 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O | 3.5 |
| 11 | 1 H_2SO_4 : 8 H_2O_2 : 1 H_2O | 9.1 |
| 12 | 1 NH_4OH : 1 H_2O_2 : 8 H_2O | 1.5 |

Tableau 3.2 – Influence de la composition et de la concentration des bains sur la vitesse de gravure du plan (100) à $T = 22^\circ\text{C}$.

D'après le tableau précédent, nous pouvons vérifier que la composition de la solution d'attaque fait varier considérablement la vitesse de gravure que ce soit par modification de l'agent de dissolution (bains 5 et 7, de vitesses respectives $4 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ et $1.6 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$), de l'agent oxydant ou encore du diluant (bains 3 et 5, de vitesses respectives $2.4 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ et $4 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$). L'utilisation de différentes concentrations entre ces trois composés fait varier aussi la cinétique de la gravure. Nous pouvons nous appuyer par exemple sur les vitesses obtenues pour divers ratios (X, Y, Z) utilisés avec le système $\text{X H}_3\text{PO}_4$: $\text{Y H}_2\text{O}_2$: $\text{Z H}_2\text{O}$. Les triangles de Gibbs des différents systèmes, tirés à partir d'ouvrages bibliographiques [40-42, 46], nous donnent une estimation de la vitesse de gravure et du comportement espérés de la solution testée en fonction des ratios choisis.

Parmi les solutions précédentes, le système $\text{X H}_2\text{SO}_4$: $\text{Y H}_2\text{O}_2$: $\text{Z H}_2\text{O}$ a un comportement fortement exothermique lors du mélange des composés. Bien que ces solutions soient étudiées dans la littérature, le manque de stabilité et de reproductibilité de ce système nous a conduit à l'éliminer des solutions possibles pour l'usinage de notre membrane. Au contraire, les solutions à base de H_3PO_4 et HNO_3 ont montré une grande stabilité dans le temps. Les bains à base de dibrome (Br_2) attaquent la résine photosensible et ont été rapidement écartées pour des raisons pratiques. Nous nous sommes donc particulièrement intéressés au bain à base d'acide phosphorique et d'acide nitrique pour notre étude.

3.3.2.2 Influence des conditions environnementales : température et agitation

Les vitesses de gravure précédentes sont établies à température ambiante (T_{ambiant}) et sans agitation. Adachi et al. [52] relèvent l'évolution des vitesses de gravure pour la solution n°1 avec et

sans agitation. Afin d'établir une première comparaison, nous réalisons un essai en agitant la solution grâce à un plateau rotatif. La vitesse relevée est alors de $1.2 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ sans agitation et $2.8 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ sous agitation, en corrélation avec respectivement les vitesses de $1,7 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ et $2.5 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ relevées par Adachi et al. En augmentant l'agitation de la solution, la vitesse de gravure peut donc être augmentée de manière significative à partir du moment où le déplacement des espèces chimiques influence la réaction de manière significative. Le comportement « réaction limitée » de la gravure est alors renforcé.

De même, la température influence grandement la vitesse de gravure. La cinétique de réaction varie suivant une loi d'Arrhenius. Il est donc nécessaire d'avoir une excellente maîtrise de la température afin d'assurer le contrôle de la vitesse de gravure. Plus l'énergie d'activation de la réaction sera importante, et donc la réaction de type « réaction limitée » (pente de la courbe importante), plus la température influencera la réaction. Dans le cas d'une réaction de type « diffusion limitée » (faible énergie d'activation, pente faible), bien que l'influence soit moindre, la modification de viscosité et l'agitation thermique modifient tout de même la cinétique de réaction. Ce comportement est vérifié pour le bain $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ où pour une énergie d'activation d'environ $11 \text{ Kcal}.\text{mol}^{-1}$ une variation de température de l'ambiante à 0°C fait varier la vitesse de $3,6 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ à $0,85 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$. La Figure 3.18 reprend les vitesses de gravure relevées pour cette solution de gravure pour une température variant entre 15°C et -10°C .

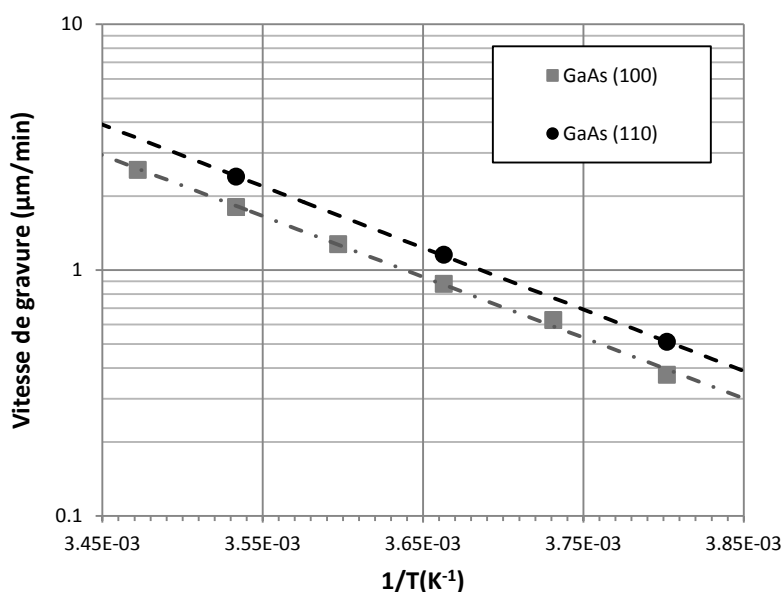


Figure 3.18 – Evolution de la vitesse de gravure des substrats GaAs (100) et (110) usinés dans un bain $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ en fonction de la température.

Une augmentation de la température va donc augmenter la vitesse de réaction de manière exponentielle jusqu'à ce que la réaction passe à un comportement de type « diffusion limitée », ce qui n'est pas le cas ici. Cette modification serait notamment visible sur la représentation d'Arrhenius par la présence de deux droites de pentes différentes, la réaction de type « diffusion limitée » ayant

une énergie d'activation beaucoup plus faible. La loi d'Arrhenius et les remarques précédentes sont aussi valables pour le bain 1 HNO₃ : 1 H₂O₂.

Notons sur ce tracé d'Arrhenius qu'il existe un décalage de vitesse entre les plans (110) et (100) qui sera discuté dans la section (§ 3.5.3). Nous verrons par la suite que les deux paramètres, température et agitation, influencent grandement la structuration de la surface de GaAs (§ 3.5.4).

3.3.3 Propriétés topographiques de la surface de GaAs (100) usinée par gravure humide

Comme nous l'avons précédemment décrit, nous souhaitons étudier le comportement de différentes solutions de gravure afin d'obtenir d'une part, une surface dont la rugosité de surface est la plus faible possible (solutions 1 à 8) et, d'autre part, une solution particulièrement adaptée à la réalisation d'une structure membranaire (solutions 10, 11 et 12) [75] et proposant une structuration particulière de la surface du GaAs (solutions 9 à 12). La composition du bain, sa concentration ainsi que les variations des conditions environnementales vont influencer l'état géométrique de surface résiduel après usinage.

Pour illustrer ces modifications topographiques, des images de microscopie à force atomique (Figure 3.19) sont réalisées sur des surfaces de GaAs (100) usinées dans les précédentes solutions de gravure sur une profondeur de 20µm.

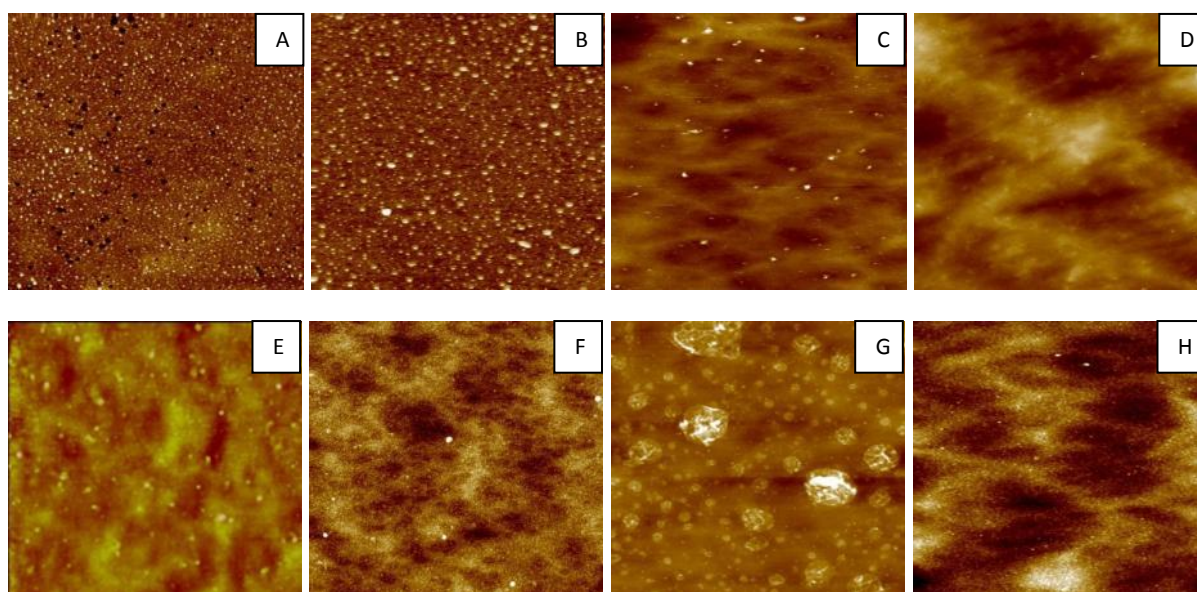


Figure 3.19 – Images AFM (10x10µm) de surface de GaAs (100) usinées dans différentes conditions opératoires : (A) 1 H₂SO₄ : 2 HCl : 3 K₂Cr₂O₇ à Tambiant, échelle en z = 50 nm; (B) 1 H₂SO₄ : 2 HCl : 3 K₂Cr₂O₇ à Tambiant sous agitation, échelle en z = 75 nm; (C) 1 H₃PO₄ : 1 H₂O₂ : 1 H₂O à Tambiant, échelle en z = 30 nm; (D) 1 H₃PO₄ : 9 H₂O₂ : 1 H₂O à Tambiant, échelle en z = 50 nm; (E) 7 H₃PO₄ : 5 H₂O₂ : 8 H₂O à Tambiant, échelle en z = 20 nm; (F) 1 HNO₃ : 1 H₂O₂ à T=10°C, échelle en z = 30 nm; (G) 1 HNO₃ : 1 H₂O₂ à Tambiant, échelle en z = 65 nm; (H) 1 HNO₃ : 1 H₂O₂ : 1 H₂O à Tambiant, échelle en z = 30 nm. Images en air en mode contact.

Les Figure 3.19 A et B mettent en évidence les modifications induites par modification de l'agitation lors d'une gravure en bain 1 H₂SO₄ : 2 HCl : 3 K₂Cr₂O₇, augmentant de manière significative la taille des motifs. Les variations d'état de surface induites par l'utilisation de différents ratios d'un même système de gravure (X H₃PO₄ : Y H₂O₂ : Z H₂O) sont observées sur les images Figure 3.19 C, D et F. Les motifs de dissolution sont complètement différents, plus gros et plus marqués pour la Figure 3.19 D. Les observations Figure 3.19 G, avec une solution de gravure 1 HNO₃ : 1 H₂O₂ montrent l'altération de la surface par la présence de microbulles durant l'usinage, ce phénomène pouvant être contourné en réduisant la température de gravure (Figure 3.19 F). La diminution de la température ambiante à 10°C fait disparaître les bulles apparaissant lors de la gravure chimique. De même, les microbulles peuvent être résorbées par ajout d'un diluant dans la solution (Figure 3.19 H) conférant un état poli à la surface.

Pour compléter la discussion sur les images AFM, les paramètres de rugosité sont calculés sur plusieurs images de 10 µm par 10 µm avec une résolution de 512 par 512 pixels. Les paramètres moyens de rugosité arithmétique (Ra) et quadratique (Rms) sont donnés dans le Tableau 3.3.

| N° | Composition des bains | Agitation | T (°C) | Ra (nm) | Rms (nm) |
|----|--|-----------------|--------|---------|----------|
| 1 | 1 H ₂ SO ₄ : 2 HCl : 3 K ₂ Cr ₂ O ₇ | / | 22°C | 3.1 | 4.7 |
| 1 | 1 H ₂ SO ₄ : 2 HCl : 3 K ₂ Cr ₂ O ₇ | Plateau rotatif | 22°C | 4.1 | 6 |
| 3 | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ : 1 CH ₃ COOH | / | 22°C | 3.7 | 4.7 |
| 4 | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ | / | 10°C | 2 | 2.6 |
| 4 | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ | / | 22°C | 3.9 | 6.2 |
| 5 | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O | / | 22°C | 2.4 | 3 |
| 7 | 1 H ₃ PO ₄ : 1 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O | / | 22°C | 1.8 | 4.2 |
| 8 | 7 H ₃ PO ₄ : 5 H ₂ O ₂ : 8 H ₂ O | / | 22°C | 1 | 1.3 |
| 10 | 1 H ₃ PO ₄ : 9 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O | / | 22°C | 2.9 | 3.6 |

Tableau 3.3 – Paramètres de rugosité des surfaces GaAs (100) usinées dans différentes conditions de température (température ambiante 22°C et 10°C) et d'agitation.

Ces valeurs confirment les observations précédentes et soulignent les différentes valeurs de rugosité pouvant être obtenues pour des bains de compositions et de concentrations différentes ainsi que pour différentes conditions de température et d'agitation. Les faibles valeurs de rugosité de la surface de GaAs (100) usinée par une solution 7 H₃PO₄ : 5 H₂O₂ : 8 H₂O montrent l'intérêt de cette solution pour l'amincissement du substrat et confère à la surface une finition polie de haute qualité.

Les paramètres de rugosité Ra et Rms de la surface attaquée par la solution d'acide phosphorique 1 H₃PO₄ : 9 H₂O₂ : 1 H₂O sont de 2.9 nm et 3.6 nm respectivement. D'après les images AFM, nous voyons que ces valeurs ne sont pas induites par des phénomènes indésirables comme la présence de bulles dans la solution 1 HNO₃ : 1 H₂O₂ mais sont liées à un début de structuration de la surface avec la révélation de motifs particuliers à la surface. Cette microstructuration spécifique sera étudiée plus en détail dans la section 3.5. Nous verrons comment nous pouvons tirer avantage de cette microstructuration afin d'accroître la sensibilité de notre biocapteur.

3.3.4 Choix des solutions de gravure et conditions environnementales

3.3.4.1 Solutions de gravure retenues

Du fait de leur grande stabilité, les bains à base d'acide phosphorique se sont avérés être de bons candidats pour la gravure profonde de l'arséniure de gallium. Les multiples combinaisons possibles par ajustement des concentrations de chaque composé (acide, oxydant, diluant) permettent de plus d'obtenir des comportements très variables suivant l'application visée. Ainsi le bain $7 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 5 \text{ H}_2\text{O}_2 : 8 \text{ H}_2\text{O}$ a permis l'obtention d'une surface très lisse et particulièrement adaptée pour l'amincissement de la surface alors que le bain $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ est adapté pour la réalisation de structures de type mesa ou diaphragme.

Nous l'avons dit, le comportement de ces solutions est fortement influencé par les conditions de position de l'échantillon, d'agitation ou de température au cours de la gravure. En réalisant des premiers essais de gravure, nous avons mis en évidence un effet de bords important au niveau des encastrement des membranes lors de l'usinage dans le bain $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$. Du fait de l'absence de masque pendant la phase d'amincissement, ces effets ne sont pas visibles mais un mauvais renouvellement de la solution à la surface de l'échantillon altère la surface de manière irréversible.

3.3.4.2 Position de l'échantillon

Afin de supprimer ces effets indésirables lors des usinages, nous avons modifié dans un premier temps la position de l'échantillon. En effet, la position initiale - face à usiner vers le haut - ne semble pas la plus appropriée pour le bon renouvellement de la solution à la surface. Nous avons alors réalisé un essai en positionnant la face à usiner verticalement, mais un gradient de concentration a induit une hétérogénéité entre la partie haute et basse de la face usinée. La position la plus appropriée est alors d'orienter la face vers le fond du bécher bien que le maintien de l'échantillon soit alors plus complexe. Un dispositif spécifique a été conçu.

3.3.4.3 Agitation

Le renouvellement de la solution est surtout assuré par une agitation plus importante. L'agitation de la solution par plateau rotatif est vite limitée, car peu homogène, et n'assure pas un mouvement suffisant. Une agitation par ultrasons est utilisée par Chen et al. [76], mettant en avant une grande homogénéité de la gravure avec ce type d'agitation. Ce résultat a été confirmé avec le bain $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$, éliminant les effets de bord et augmentant la vitesse de $3.6 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ à $5.9 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$. Cependant, dans le cas de solutions très visqueuses, riches en acide comme notre solution d'amincissement, le renouvellement n'est pas optimal. De plus, la tenue de la résine photosensible est très limitée avec cette agitation. Nous avons alors opté pour une agitation grâce à un agitateur magnétique. Les meilleurs résultats ont été obtenus pour une agitation importante avec une vitesse de rotation de $500 \text{ tr}.\text{min}^{-1}$. Avec cette agitation, les effets de bords sont quasiment inexistantes lors de la structuration membranaire et l'amincissement est très homogène.

3.3.4.4 Température

Cette forte agitation induit une augmentation importante des vitesses de gravure, déjà élevées pour espérer obtenir un bon contrôle des épaisseurs retirées. Elles passent en effet de $3.1 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ à $4.57 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ pour l'amincissement et de $3.6 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ à $4.6 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ pour la réalisation de la membrane. Pour réduire ces vitesses, nous avons choisi de nous placer à des températures bien inférieures à la température ambiante. Cependant, la réduction de la température de la solution de gravure tout en conservant une agitation par agitateur magnétique n'est pas aisée. Nous avons donc dans un premier temps utilisé de la glace fondante afin de conserver une température constante aux alentours de 0°C pour nos solutions de gravure. Les premiers essais, très concluants, nous ont conduit à utiliser cette température pour l'usinage de notre structure. Comme nous le verrons dans la section 3.4.3, un montage particulier a été réalisé afin de mieux maîtriser la température de la gravure et de s'assurer d'une bonne reproductibilité des épaisseurs des membranes. Les vitesses de gravure dans les deux solutions sont alors déterminées expérimentalement et présentées la Figure 3.20.

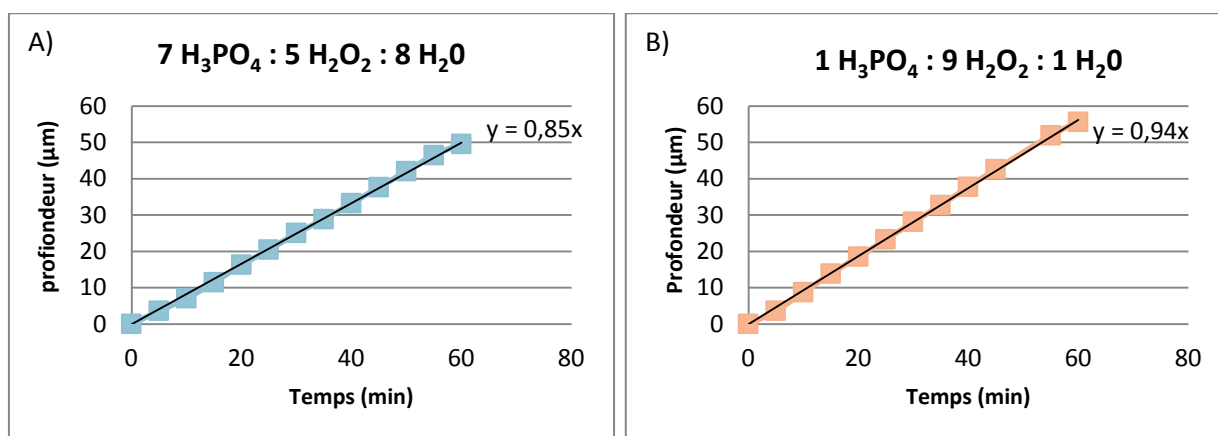


Figure 3.20 - Estimations expérimentales des vitesses de gravure du GaAs (100) non dopé avec les solutions de gravure d'amincissement(A) et de structuration de la membrane (B) agitée grâce à un agitateur magnétique tournant à $500 \text{ tr}.\text{min}^{-1}$ pour une température de 0°C .

Nous utiliserons donc par la suite les solutions $7 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 5 \text{ H}_2\text{O}_2 : 8 \text{ H}_2\text{O}$ pour l'amincissement du substrat et $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ pour la réalisation de la membrane à une température de 0°C et fortement agitées par un agitateur magnétique tournant à $500 \text{ tr}.\text{min}^{-1}$, la face à usiner orientée vers le sol. Les vitesses respectives de ces deux phases sont alors de $0.85 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ et $0.94 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$.

3.3.5 Estimation des profils et dimensionnement du masque

L'étape d'amincissement ne nécessite aucune étape de masquage du fait que nous souhaitons amincir l'intégralité du substrat. Il n'est donc pas nécessaire de regarder l'influence de la vitesse de gravure de cette solution sur les autres plans cristallographique du GaAs. Au contraire, pour réaliser la membrane, une étude supplémentaire est nécessaire afin de prédire la forme des profils et d'estimer la sous gravure.

Bien que la précision sur les dimensions latérales ne soit pas un élément déterminant dans le fonctionnement de notre capteur (dimensions latérales très grandes comparativement à l'épaisseur de la membrane), il est souhaitable que la membrane ait des dimensions proches de celles estimées.

De plus, bien que négligée dans notre étude, la forme des profils peut influencer les conditions d'encastrement de notre membrane. Pour ces raisons, nous nous sommes intéressés à la forme des profils révélés lors de la réalisation de la membrane.

Deux orientations sont étudiées :

- suivant la direction $\langle 011 \rangle$, c'est-à-dire parallèle au méplat du wafer. Cette orientation a été montrée comme préférentielle lors de la détermination du coefficient de couplage électromécanique (cf section 2.4.5).
- suivant la direction $\langle 001 \rangle$, orienté à 45° par rapport au méplat. Le coefficient de couplage électromécanique est le plus faible dans cette direction.

3.3.5.1 Anisotropie de la solution

Contrairement au silicium où l'anisotropie est très marquée entre les plans cristallins, l'anisotropie du GaAs est beaucoup moins prononcée. Il est donc nécessaire d'évaluer les vitesses de gravure des autres plans cristallins afin d'estimer les profils qui seront révélés lors de la gravure. Du fait de ces variations de vitesses de gravure, notamment entre les faces (111)A et (111)B, l'usinage permet l'obtention de formes 3D originales comme nous l'avons vu au paragraphe 3.1.3. Tellier et al. [77] se sont intéressés à la formation de structures géométriques tridimensionnelles en étudiant les différences de vitesses de gravure suivant les différentes orientations cristallines du cristal.

Pour une membrane alignée suivant la direction $\langle 011 \rangle$, les contours opposés seront alignés suivant les directions $\langle 011 \rangle$ et $\langle 01\bar{1} \rangle$. Pour prédire l'évolution des profils, il faut s'intéresser à l'inverse des vitesses de gravure (lenteur de dissolution) dans les différentes directions cristallographiques des plans (011) et $(01\bar{1})$: ce sont les diagrammes des lenteurs de dissolution. Dans le cas de la formation de cavité (forme concave), ce sont les plans de plus grande lenteur qui bordent la cavité, donc les plans (111)A. Sur le diagramme, les maxima de la lenteur traduisent la direction normale au plan dont la gravure est la plus lente. Tellier et al. [73] ont établi les diagrammes de dissolution du GaAs (100) pour une solution $1 \text{ H}_2\text{SO}_4 : 8 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ et ont simulé les profils obtenus pour une cavité orientée dans une direction $\langle 011 \rangle$. Le plan de plus grande lenteur est le plan (111)A alors que le plan opposé (111)B a une vitesse de gravure supérieure au plan (100). Les plans apparaissant sont des profils sortants et rentrants formant respectivement un angle de 54.7° et 125.3° (Figure 3.21 A) dans les deux sections droites.

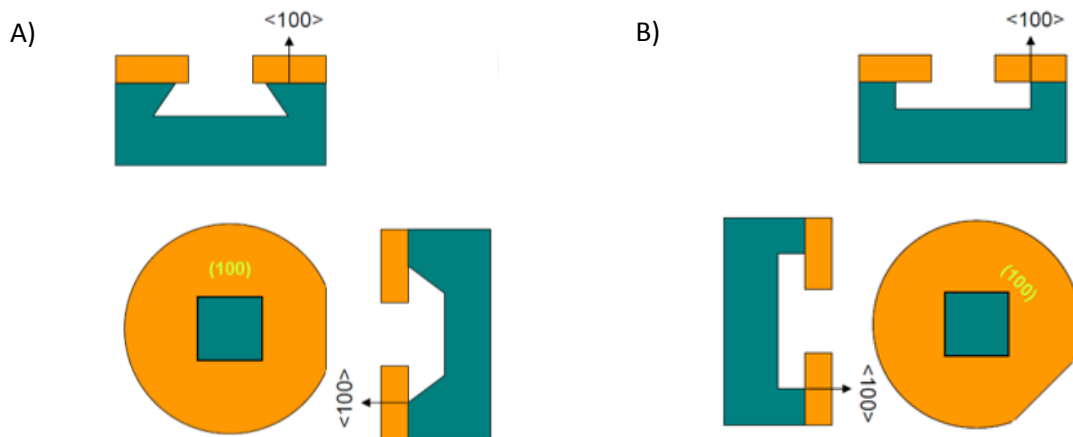


Figure 3.21 - Représentations schématiques des profils sortants et rentrants d'une cavité rectangulaire alignée dans la direction $\langle 011 \rangle$ (A) et $\langle 001 \rangle$ (B)

Pour une membrane alignée suivant la direction $\langle 001 \rangle$, tous les contours seront alignés suivant les directions $\langle 001 \rangle$ ou $\langle 010 \rangle$. Suivant ces directions, les plans de plus grande lenteur de dissolution sont le plan (001) et (011), la gravure dans ces directions est donc équivalente à la vitesse de gravure verticale, la sous-gravure sera donc identique à la profondeur usinée et les profils seront verticaux (Figure 3.21 B) sur une première partie puis une facette inclinée à 45° (correspondant au plan (011)) joindra la partie verticale au plan de référence (100).

Les simulations d'usinage de cavité rectangulaire orientée dans la direction $\langle 011 \rangle$ et $\langle 001 \rangle$ réalisées par Tellier et al [73] montrent ces différences de profils (Figure 3.22).

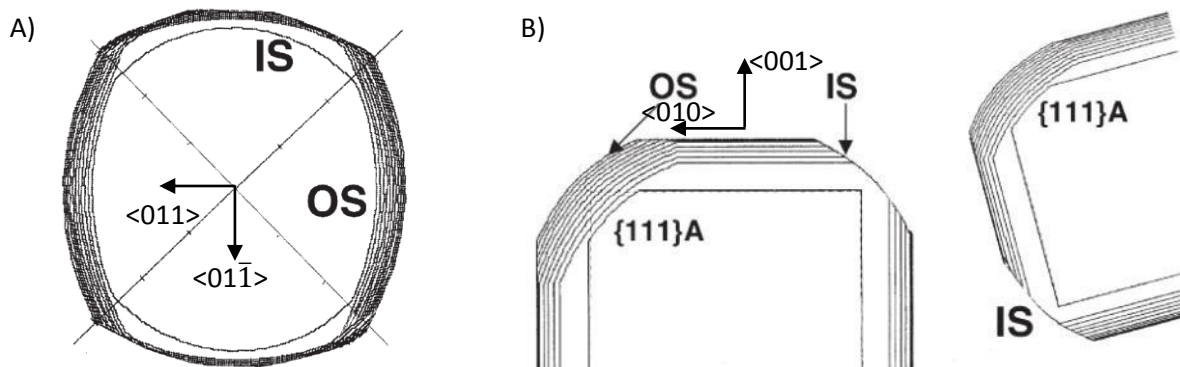


Figure 3.22 - Simulations de l'usinage de cavités rectangulaires orientées dans les directions $\langle 011 \rangle$ (A) et $\langle 001 \rangle$ (B) : profils rentrants (IS), profils sortants (OS) [73].

Sur le tracé Figure 3.22 B, nous voyons la facette orientée à 45° liant le fond de la cavité et les profils verticaux. Afin d'estimer la sous-gravure, il est donc nécessaire de connaître la vitesse de gravure dans les directions (111)A et (011). A température ambiante, les vitesses de gravure de ces plans sont respectivement de $2.2 \mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$ et $4.3 \mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$ alors que pour le plan (100) la vitesse de gravure est de $3.6 \mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$. Les rapports d'anisotropie par rapport au plan (100) des plans (111)A et (011) sont respectivement de 1,6 et 0,8 pour la solution de gravure $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ ce qui est bien inférieur au cas du silicium et peuvent mener à la formation de facette arrondies [52].

3.3.5.2 Dimensionnement du masque

Afin de fabriquer des membranes dont les dimensions sont approximativement celles escomptées, il est nécessaire d'évaluer la sous-gravure et de dimensionner correctement les ouvertures correspondantes aux membranes. La sous-gravure ne sera pas identique suivant l'orientation de la membrane et le contour étudié.

- Membrane orientée dans la direction $\langle 011 \rangle$:

La Figure 3.23 reprend schématiquement les deux types de profils que nous retrouvons pour cette orientation.

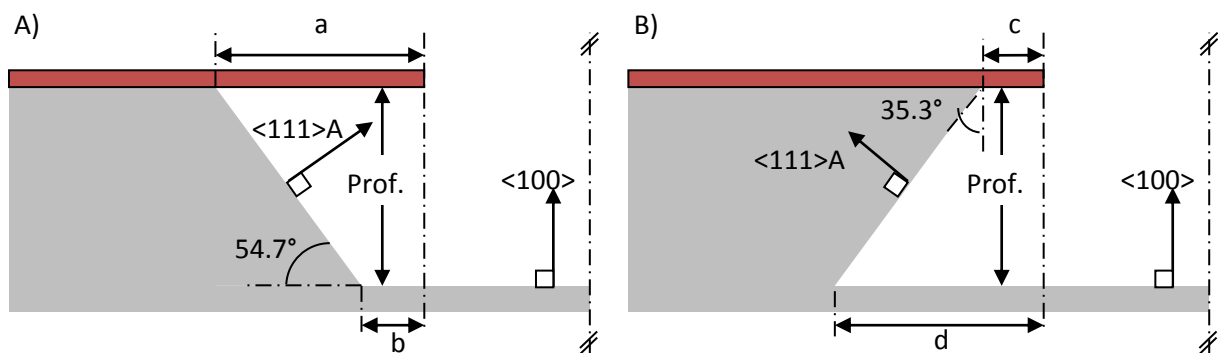


Figure 3.23 - Sections dans le plan $(0\bar{1}1)$ (A) et (011) (B) d'une cavité rectangulaire orientée suivant la direction $\langle 011 \rangle$.

La profondeur que nous souhaitons usiner est d'environ $150 \mu\text{m}$, il faut donc calculer les distances b et d afin que les ouvertures du masque prennent en compte cette augmentation de largeur des motifs. La Figure 3.24 reprend schématiquement les tracés géométriques de ces usinages. Le profil d'un usinage isotrope est représenté par l'arc de cercle en pointillé dans la figure suivante.

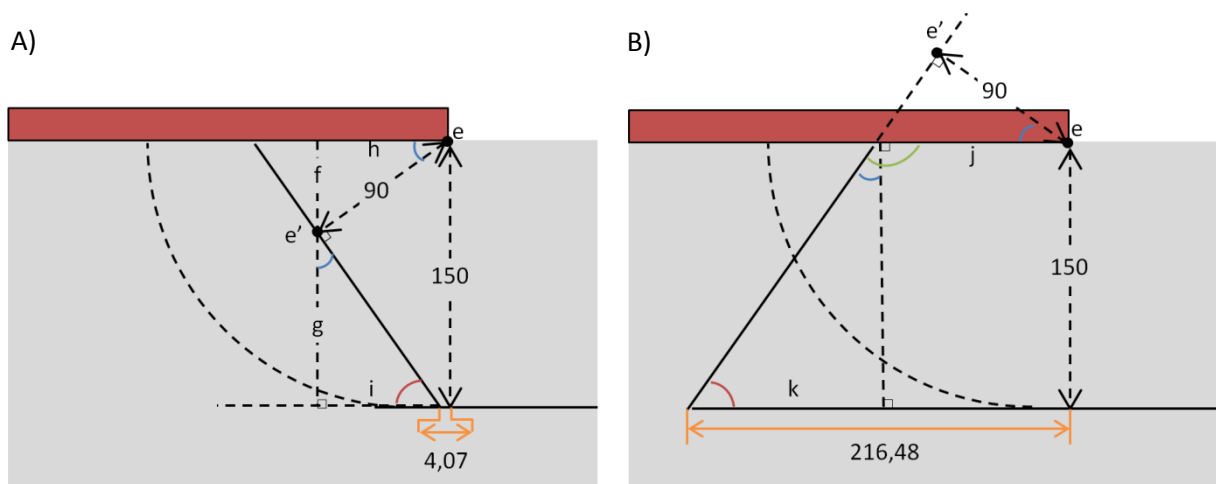


Figure 3.24 – Tracés géométriques des profils révélés lors de la gravure pour les sections $(0\bar{1}1)$ (A) et (011) (B)

Dans la direction $\langle 011 \rangle$ (Figure 3.24 A), dans l'hypothèse où le plan (111)A est le plan de plus grande lenteur, il faut tenir compte du rapport d'anisotropie entre le plan (111)A et (100) afin de déterminer la distance b (Figure 3.23 A). En effet, à la jonction avec le masque, l'usinage sera de $150 \mu m$ dans la direction verticale et de $90 \mu m$ ($150 * \frac{1}{R}$, R rapport d'anisotropie) dans la direction $\langle 111 \rangle$ A (point e' sur la Figure 3.24). On estime alors b :

$$\left. \begin{array}{l} b = h - i \\ i = \tan 35.3^\circ * g \\ h = \cos 35.3^\circ * 90 \\ g = 150 - f \\ f = \sin 35.3^\circ * 90 \end{array} \right\} b = 4.07 \mu m$$

Dans la direction $\langle 01\bar{1} \rangle$ (Figure 3.24 B), on applique le même raisonnement et on détermine d (Figure 3.23 B) :

$$\left. \begin{array}{l} d = j + k \\ j = \frac{90}{\cos 35.3^\circ} \\ k = \sin 35.3^\circ * 150 \end{array} \right\} d = 216.48 \mu m$$

La longueur et la largeur des motifs devront donc être réduites de $2*b$ dans la direction $\langle 011 \rangle$ et $2*d$ dans la direction $\langle 01\bar{1} \rangle$. Ainsi, pour une membrane de 4 mm par 3mm dans les directions respectives $\langle 011 \rangle$ et $\langle 01\bar{1} \rangle$, il faudra dessiner des motifs de 3.992 mm par 2.568 mm.

- Membrane orientée dans la direction $\langle 001 \rangle$:

Les 4 profils sont identiques pour cette orientation. La facette verticale (001) ou (010) est gravée à la même vitesse que le plan (100), d'où une sous-gravure de $150 \mu m$. La facette (011) est gravée à une vitesse 1,2 fois supérieure au plan (100). La profondeur de gravure dans cette direction est donc de $150 * 1.2 = 180 \mu m$. La Figure 3.25 définit la distance p à prendre en compte pour le dimensionnement du masque.

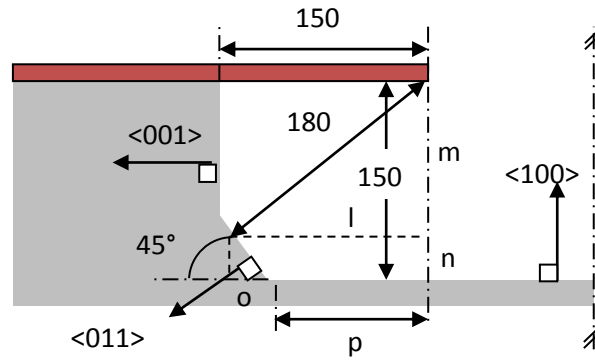


Figure 3.25 – Section dans le plan (001) d'une cavité rectangulaire orientée suivant la direction <001>.

$$\left. \begin{array}{l} p = l - 0 \\ l = \sin 45^\circ * 180 \\ m = \cos 45^\circ * 180 \\ n = 150 - m \\ o = \tan 45^\circ * n \end{array} \right\} p = 104.55 \mu m$$

La largeur et la longueur des motifs seront donc réduits d'une dimension égale à 2 fois la distance p soit environ $209 \mu m$. Pour une membrane de 4 mm de long et 3 mm de large, il faudra dessiner des motifs de 3.791 mm par 2.791 mm.

3.4 Fabrication des dispositifs

3.4.1 Stratégie d'usinage

Malgré les précautions prises lors de la caractérisation des solutions de gravure, il subsiste de nombreuses incertitudes qui limitent la maîtrise totale du processus de gravure et empêche de connaître précisément l'épaisseur de la membrane. Ces incertitudes peuvent provenir de nombreuses sources :

- De la matière : homogénéité, défaut de planéité du substrat initial, épaisseur initiale, état de surface,
- Du matériel utilisé : incertitude sur les réactifs, sur les appareils de mesures,
- Du milieu environnant : température, agitation, luminosité,
- De la méthode utilisée : position de l'échantillon dans le bain de gravure, variabilité de la vitesse de gravure au cours du temps,
- De l'opérateur : reproduction à l'identique du procédé.

Ces nombreuses incertitudes couplées à la quantité importante de matière à retirer (usinages longs) rendent quasiment impossible le contrôle parfait de l'épaisseur finale de la membrane. Certaines de ces incertitudes peuvent être :

- réduites, en utilisant par exemple toujours les mêmes produits et substrats ou en développant des montages spécifiques permettant de contrôler les conditions environnementales, comme nous le verrons au §3.4.3.2.
- corrigées, en étalonnant les appareils de mesures.
- Contournées, grâce à l'utilisation d'un témoin visuel permettant de contrôler si l'épaisseur finale est atteinte.

En plus d'une grande rigueur lors des manipulations, nous avons opté pour cette dernière solution. Ce témoin visuel consiste à usiner un trou dont la profondeur, parfaitement contrôlée, est égale à l'épaisseur finale de la membrane. Les dimensions de ce trou sont du même ordre de grandeur que celles de la membrane de telle façon qu'il s'usinera avec une vitesse semblable à celle de la membrane. Ainsi, dès que le trou débouche sur l'autre face de l'échantillon, l'épaisseur finale de la membrane est atteinte. Il faut dès lors stopper l'usinage. 5 étapes sont donc requises pour la fabrication de notre structure vibrante, reprises dans le diagramme Figure 3.26. Ces étapes seront développées dans le protocole complet de fabrication, présenté au paragraphe 3.4.2.

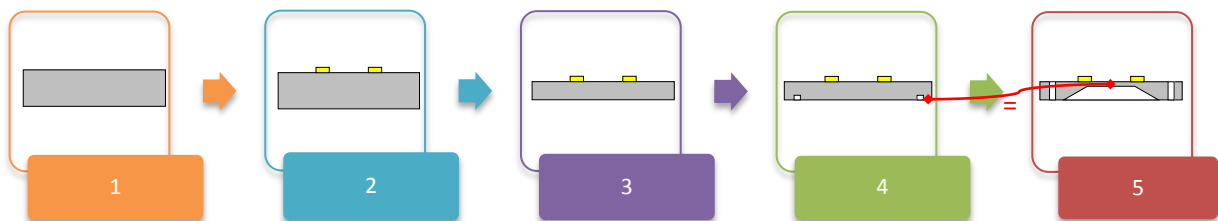


Figure 3.26 – Schéma simplifié du procédé de fabrication de notre structure GaAs résonante : 1) substrat nettoyé, 2) dépôt d'électrodes, 3) 1^{ère} gravure humide : amincissement, 4) 2^{ème} gravure humide : témoin d'épaisseur et 5) 3^{ème} gravure humide : réalisation de la membrane.

Plusieurs géométries de membrane sont testées : des membranes carrées de 2 mm par 2 mm et des membranes rectangulaires de 4 mm par 3 mm. Les grands côtés de ces membranes sont orientés soit dans la direction $\langle 001 \rangle$, soit dans la direction $\langle 011 \rangle$. Plusieurs configurations d'électrodes sont testées : les électrodes des grandes membranes ont un diamètre de 2.8 mm et celle des petites membranes un diamètre de 2.4 mm. Les électrodes des membranes orientées $\langle 011 \rangle$ sont alignées dans la même direction avec différents espacements : 0.8 mm, 1.2 mm et 1.6 mm. Pour les autres, deux alignements sont testés $\langle 011 \rangle$ et $\langle 001 \rangle$ avec deux écartements différents : 0.8 mm et 1.6 mm. Pour chaque condition, deux membranes sont réalisées.

Pour tester ces différentes conditions et aussi réduire les coûts de développement de notre procédé de fabrication, nous avons décidé de travailler sur des puces (échantillon d'un wafer). Dans le cadre de réalisation d'un réseau de capteurs ou pour envisager un usinage collectif de ces dispositifs, il faudra donc adapter le protocole établi sur ces puces afin de produire collectivement des capteurs à partir de wafers entiers.

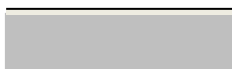

3.4.2 Protocole complet de fabrication

La fabrication de notre biocapteur combine des étapes de gravure surfacique face avant avec la gravure sélective de couches déposées afin de faire apparaître les électrodes et des usinages en volume face arrière : 1 sans masquage pour l'amincissement du substrat puis un autre sous un masque réalisé par photolithographie pour les membranes.

3.4.2.1 Nettoyage du substrat

Les deux faces de notre wafer sont utilisées lors de la fabrication du capteur car sur la face avant nous retrouvons le circuit électrique avec les électrodes et sur la face arrière la membrane. Il est donc nécessaire d'utiliser un wafer dont les deux faces sont polies. Nous utilisons ici un wafer commercial de deux pouces (50,4 mm) de diamètre et 350 μm d'épaisseur. Afin de satisfaire aux conditions requises pour la transduction, le wafer est orienté (100), semi-isolant et non dopé.

Comme pour la caractérisation des solutions de gravure (§3.3.1.1), le même nettoyage drastique du wafer est nécessaire pour retirer les impuretés minérales et organiques présentes à la surface de l'échantillon. La couche dont la structure cristalline est désorganisée doit aussi être retirée mais cette fois en utilisant la solution 7 H_3PO_4 : 5 H_2O_2 : 8 H_2O à une température de 0°C pendant 2 minutes sous agitation.

| Phase | Etapes | Moyens | Paramètres | Schéma |
|-------------------------|------------------------------------|---|---|---|
| 00 - Nettoyage substrat | 01 | Nettoyage Decon® Acetone Acide Sulfochromique Ethanol | 10' + US 10' + US 1' 10' + US |  |
| | Rq : US = agitation sous ultrasons | | | |
| | 02 | Suppression couche amorphe 7 H_3PO_4 : 5 H_2O_2 : 8 H_2O | Tps : 2' Agitation : 500tr/min T° : 0°C |  |

3.4.2.2 Dépôt des électrodes

Cette étape, très classique, consiste à graver sélectivement des couches déposées sur le substrat afin d'obtenir les formes d'électrodes désirées. Une bicouche chrome (couche d'accroche) – or est déposée par pulvérisation cathodique et structurée par gravure sélective grâce à un masque de résine photosensible. La bicouche diffusant légèrement dans le GaAs, nous avons opté pour un lift off. Nous avons donc commencé par masquer les zones à protéger par un masque de résine puis nous avons déposé la bicouche. Après retrait de la résine, seules les électrodes subsistent sur le substrat.

Initialement prévu en gravure directe avec une résine positive (S1813), nous avons dû adapter notre protocole pour réaliser le lift off avec le même masque. Nous avons pour cela utilisé une résine inversible AZ5214 en configuration négative (zone exposée au UV = zone masquée).

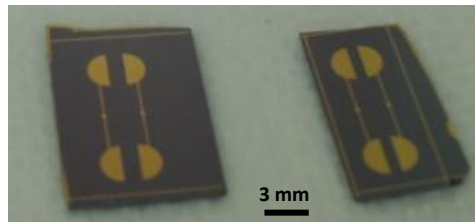
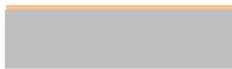














Figure 3.27 – Photographie des électrodes fabriquées par gravure surfacique

Après cette étape, le wafer est découpé en plusieurs puces (Figure 3.27) afin de pouvoir tester différentes conditions indépendamment. Les prochaines étapes de microfabrication sont donc réalisées uniquement sur des puces rectangulaires.

| Phase | Etapes | Moyens | Paramètres | Schéma |
|--|---|-----------------------------|--|---|
| 10 – Réalisation des électrodes par « lift off » | 11 | Dépôt résine | AZ 5214 Tournette V=4000tr/min (ep 1.4µm) A=4000tr/min/s Tps rotation : 30s |  |
| | AZ 5214 : résine inversible négative | | | |
| | 12 | 1 ^{er} recuit | Plaque chauffante Tps recuit : 2'' T° recuit : 120°C Tps repos : 2' |  |
| | 13 | 1 ^{ère} insolation | Lampe UV Masque électrodes Tps insolation : 3sec Tps repos : 2' mini |  |
| | Masque électrodes prévu initialement pour résine positive | | | |
| | 13 | 2 ^{ème} Recuit | Plaque chauffante Tps recuit : 1'30 T° recuit : 120°C Tps repos : 2' mini |  |
| | 14 | 2 ^{ème} insolation | Lampe UV Pas de masque Tps insolation : 15'' Tps repos : 2' mini |  |
| | Phase d'inversion de la résine | | | |
| | 15 | Révéléateur | AZ 726 Tps : 45'' |  |
| | 16 | Dépôt Cr | Evaporateur Plassys Intensité : 0.5A Tps : 5 sec |  |
| | Couche d'accroche, quelques nm | | | |
| | 17 | Dépôt Au | Evaporateur Plassys Intensité : 0.5A Tps : 1 ' |  |
| | Epaisseur des électrodes : 200nm environ | | | |
| | 18 | Stripping | Acétone ou remover 1165 US |  |

3.4.2.3 Amincissement du substrat

L'amincissement d'une face du substrat est effectué dans la solution de gravure 7 H₃PO₄ : 5 H₂O₂ : 8 H₂O, l'autre face étant protégée par une résine photosensible. Bien que moins rapide qu'un amincissement double face, cette stratégie permet à la fois de réaliser les électrodes sur un substrat non aminci, donc non fragilisé, et d'accroître le contrôle de la planéité et de l'épaisseur du substrat en s'assurant des conditions d'usinage de la face amincie. Comme pour la réalisation de la membrane, les conditions particulières d'agitation, de température et de maintien de l'échantillon sont assurées grâce à un montage expérimental spécifique développé au §3.4.3.

| Phase | Etapes | Moyens | Paramètres | Schéma |
|--------------------|--|--|---|---|
| 20 - Amincissement | 21 | Dépôt résine S1813 | V=4000tr/min A=4000tr/min/s Tps rotation : 30s Tps 1 ^{er} recuit : 1'30 T° recuit : 120°C Tps repos : 2' mini Tps 2 ^{ème} recuit : 2' Tps repos : 2' |  |
| | 22 | Collage sur porte substrat Colle cyano | |  |
| | 23 | Amincissement 7 H ₃ PO ₄ : 5 H ₂ O ₂ : 8 H ₂ O | Tps : 2h56 environ T° : 0°C Agitation : 500tr/min |  |
| | 24 | Décollage + stripping Acétone | Tps : 1 nuit |  |
| | Activation aux ultrasons si nécessaire, arrêtée dès que l'échantillon est décollé. Vérifier que la résine est entièrement retirée. | | | |
| | | | | |

3.4.2.4 Réalisation du témoin d'épaisseur et insolation de la membrane




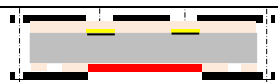


Le témoin d'épaisseur ainsi que la membrane sont réalisés sur la même face de la puce. Une couche de résine photosensible S1813 est déposée sur les deux faces de la puce afin de protéger, d'une part, les électrodes et, d'autre part, pour réaliser le masque qui servira à structurer le témoin d'épaisseur et la membrane. Cependant, l'ouverture du témoin d'épaisseur doit précéder celle de la membrane. Nous utilisons ici les propriétés de la résine photosensible pour réaliser cette structuration du masque en deux temps.

La position du témoin d'épaisseur n'a pas d'importance particulière, il faut uniquement veiller à ce qu'il soit suffisamment déporté pour ne pas gêner la réalisation de la membrane. Nous réalisons par photolithographie quelque(s) ouverture(s) carrée(s) d'environ 1mm de côté qui servira(ont) à graver le(s) témoin(s) d'épaisseur.

Avant de débiter la gravure du(es) témoin(s) d'épaisseur, il est nécessaire d'insoler les zones qui serviront par la suite d'ouvertures pour graver les cavités face arrière. Contrairement au(x) témoin(s) d'épaisseur, les membranes doivent être alignées avec les électrodes, situées de l'autre côté de la puce. Il faut donc réaliser un alignement double face afin de garantir cet alignement entre les deux côtés de la puce. Le paragraphe 3.4.3.3 reprend plus en détail les explications de cette insolation simple face avec alignement double face.

Après insolation les ouvertures pour la membrane ne sont pas révélées immédiatement ; nous gravons tout d'abord le(s) témoin(s) d'épaisseur à la profondeur souhaitée (i.e. épaisseur de membrane souhaitée). La gravure des témoins est réalisée dans les mêmes conditions que l'étape suivante, c'est-à-dire avec la même solution de gravure ($1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$) et dans les mêmes conditions d'agitation, de température et avec la même position de l'échantillon (agitateur magnétique tournant à 500 tr.min^{-1} , 0°C et face à usiner orientée vers le bas).





Un contrôle au profilomètre est réalisé régulièrement afin de s'assurer de la profondeur gravée.

| Phase | Etapes | Moyens | Paramètres | Schéma |
|---|--|--|--|---|
| 30 – témoin d'épaisseur | 31 | Dépôt résine double face S 1813 | V=4000tr/min A=4000tr/min/s Tps rotation : 30s Tps 1 ^{er} recuit : 1'30 T° recuit : 120°C Tps repos : 2' Tps 2 ^{ème} recuit : 2' Tps repos : 2' |  |
| | 32 | Insolation témoin d'épaisseur Lampe UV Masque quelconque | Tps insolation : 6'' Tps repos : 2' |  |
| | Un masque possédant des ouvertures carrées de 1mm de côté est utilisé. | | | |
| | 33 | Révéléteur AZ 726 | Tps : 45'' |  |
| | 34 | Insolation Membrane Lampe UV Masque membrane | Tps insolation : 6'' Tps repos : 2' mini |  |
| | 35 | Collage Colle « cyano » | |  |
| | 36 | Gravure témoin d'épaisseur $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ | Tps : $e_m \times V_g$ T° : 0°C Agitation : 500 tr/min |  |
| Profondeur trou = épaisseur membrane (e_m). Vitesse de gravure (V_g) = $0.94 \mu\text{m/min}$ | | | | |

3.4.2.5 Réalisation de la membrane

Sans démonter le montage précédent, nous retirons la résine insolée correspondant aux ouvertures permettant la gravure des cavités face arrière. Après un recuit permettant de durcir la résine, l'échantillon est plongé à nouveau dans la solution de gravure $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$. Pendant cette étape, le(s) témoin(s) d'épaisseur et les cavités sont en contact avec la solution de gravure et par conséquent sont gravés à la même vitesse.

L'usinage est arrêté dès que le témoin débouche de l'autre côté de la puce. Après décollement et retrait de la résine, la structure résonante est libérée. Notons ici qu'il est possible de modifier la rugosité de la surface active (qui sera en contact avec le futur milieu biologique) en modifiant la solution et les conditions de gravure durant le procédé d'usinage. Nous y reviendrons dans la section 3.5.

| Phase | Etapes | Moyens | Paramètres | Schéma |
|---------------|--------|----------------------------|---|---|
| 40 - Membrane | 41 | Révélateur | AZ 726 | Tps : 45''  |
| | 42 | Recuit pour gravure humide | Plaque chauffante | Tps recuit : 1' T° recuit : 120°C Tps repos : 2' mini  |
| | 43 | Usinage membrane | 1 H ₃ PO ₄ : 9 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O | Tps : 2h40 environ, jusqu'à dissolution complète du témoin d'épaisseur T° : 0°C Agitation : 500tr/min  |
| | 44 | Décollage + stripping | Acétone | Tps : 1 nuit  |
| | | | | |

Du fait de la longueur des usinages, la résine utilisée à la fois comme masque mais aussi comme barrière de protection pour la face contenant les électrodes a montrée ses limites et a été attaquée à plusieurs endroits. Pour pallier ce problème, nous avons par la suite envisagé de remplacer les masques de résine par des masques de silice. Cette modification a induit quelques changements dans notre protocole de fabrication en introduisant des étapes supplémentaires de dépôt de silice, d'ouvertures et de suppressions du masque de silice. Ces deux dernières étapes sont possibles en utilisant un bain de BHF, sélectif vis-à-vis du GaAs. De même, le masque de silice n'est pas attaqué par les différentes solutions de gravure que nous utilisons dans notre protocole.

3.4.3 Montage expérimental d'usinage

3.4.3.1 Position de l'échantillon

Du fait de la forte viscosité du bain d'amincissement et de l'absence de zone masquée, il ne faut pas que le système de maintien de l'échantillon perturbe l'écoulement de la solution de gravure sur la surface. Il faut donc éviter un système de maintien qui dépasserait de l'échantillon. Afin de pouvoir maintenir l'échantillon la « tête en bas », nous avons collé la face protégée (celle comportant les

électrodes) sur un porte substrat d'AFM, ce même porte substrat étant maintenu en position par une pince flexible (Figure 3.28, photo en bas à droite). Les bons résultats de ces essais nous ont poussés à réutiliser cette technique pour la réalisation de la membrane. De plus, du fait que l'échantillon est collé sur le porte substrat, il est beaucoup moins fragile et les manipulations sont plus aisées. Il faut cependant faire très attention lors du décollage.

3.4.3.2 Température et agitation

Nous l'avons vu, il est important que la gravure se fasse à une température de 0° et avec une importante agitation. Un montage spécifique a été adapté afin de combiner agitation et refroidissement, ce qui n'est pas très aisé avec des systèmes commerciaux plutôt habitués à combiner agitation et température élevée. Des solutions existent mais sont assez chères (plaque réfrigérée avec agitation magnétique, système d'agitation magnétique étanche à immerger dans le cryostat).

La première solution testée a été d'entourer le bécher contenant la solution de gravure par un bac de glace fondante (température constante aux alentours de 0°C) et de placer l'ensemble sur un agitateur magnétique. La figure ci-dessous reprend le montage utilisé :

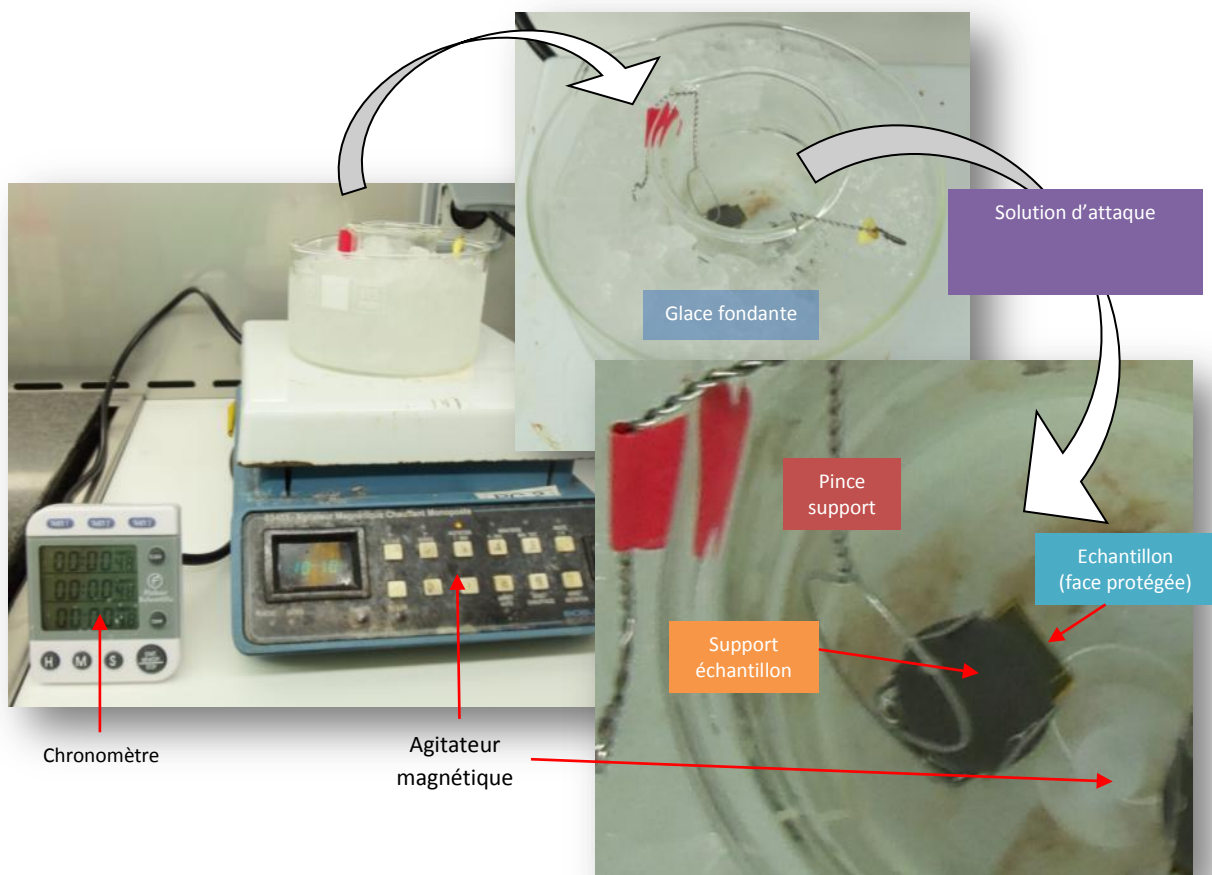


Figure 3.28 - Détails du montage expérimental pour l'amincissement du GaAs (100)

Or, le montage ci-dessus ne permet pas l'ajustement en température de la solution d'attaque. De plus, bien que la glace fondante soit théoriquement à une température de 0°C, de légères variations sont observées durant le temps de gravure. L'usinage étant relativement long (autour des 3h), il faut de plus retirer un peu d'eau glacée et rajouter des glaçons toutes les 30min, ce qui n'est pas très pratique. Un montage a donc été adapté en utilisant un échangeur thermique en cuivre relié au circuit de circulation d'un cryostat pour remplacer le bac de glace fondante. La Figure 3.29 détaille ce montage.

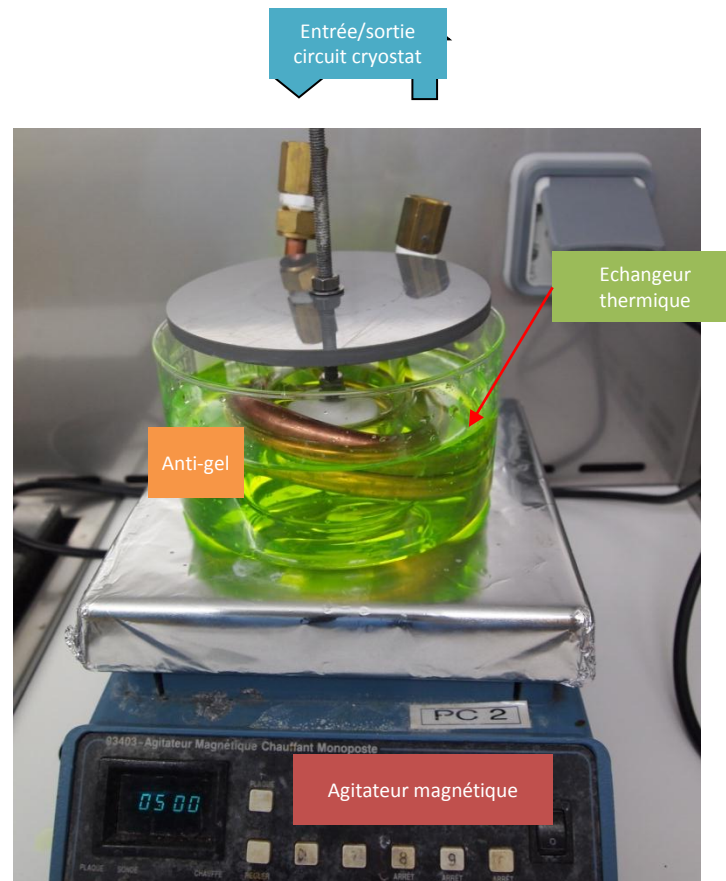


Figure 3.29 - Montage expérimental permettant le refroidissement et l'agitation de la solution de gravure, l'échantillon est positionné tête en bas.

3.4.3.3 Alignement des membranes avec les électrodes

Pour le bon fonctionnement du capteur, les membranes doivent être alignées par rapport aux électrodes reportées de l'autre côté de la puce. Du fait que nous utilisons uniquement des puces, il n'est pas possible de se servir des repères du wafer (méplat d'alignement et centrage sur les contours) pour assurer le bon alignement entre les deux côtés de la puce. Pour assurer l'alignement entre les deux faces, il faut commencer par aligner les deux masques entre eux grâce aux croix d'alignement prévues à cet effet. Ensuite, on positionne les électrodes de la puce avec les motifs correspondants reportés sur le masque des électrodes. Une fois aligné, on insole les motifs

correspondants aux membranes en utilisant un insulateur double face tout en éteignant la lampe côté électrode.

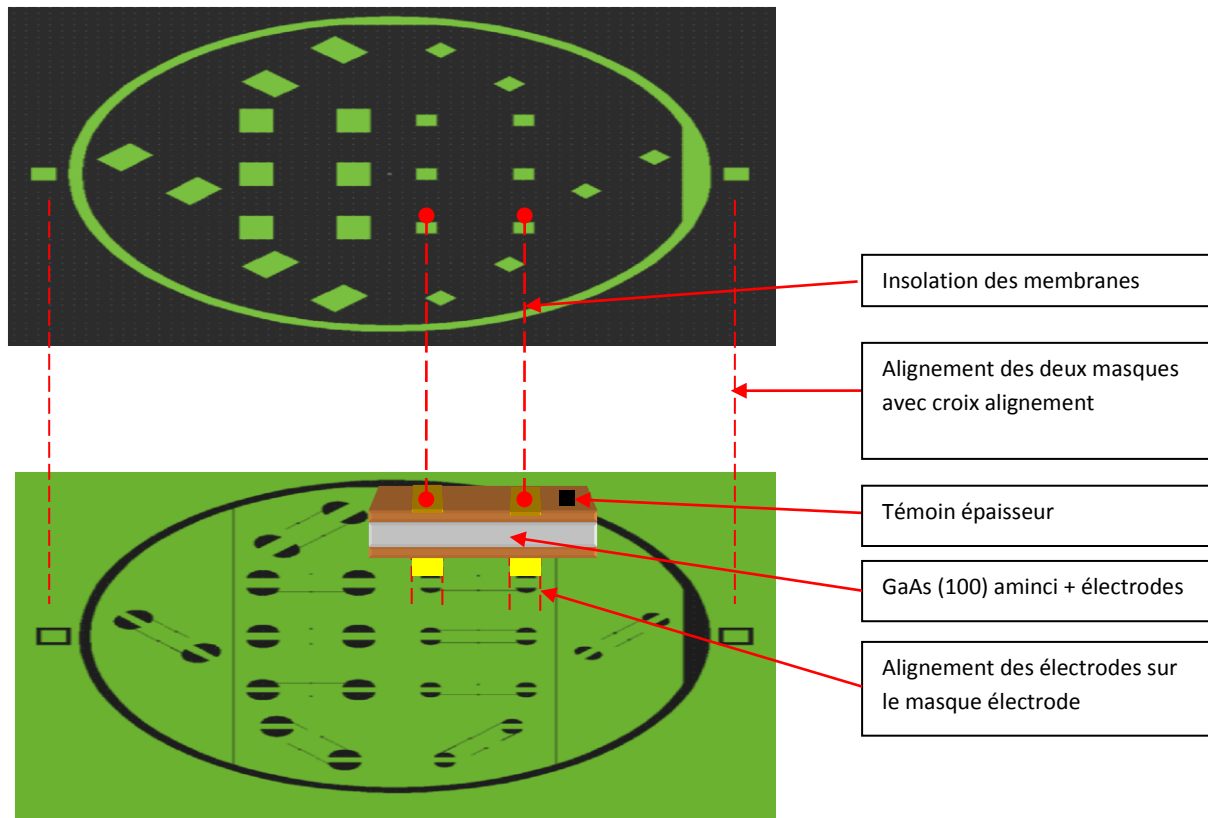


Figure 3.30 – Insolation des motifs de membranes alignés sur les électrodes reportées de l'autre côté de la puce.

3.4.4 Résultats

Nous avons souhaité vérifier les bonnes caractéristiques géométriques de nos dispositifs. Nous caractériserons ici l'épaisseur de la membrane ainsi que les sections droites en cassant nos membranes suivant des directions de clivage $\langle 011 \rangle$ et $\langle 0\bar{1}1 \rangle$ puis en observant les fragments par microscopie optique. Nous avons aussi validé la profondeur, la planéité et la rugosité du fond des cavités par profilométrie. Les résultats présentés ici correspondent à des membranes de 2 mm par 2mm orientées dans les directions $\langle 011 \rangle$ et $\langle 001 \rangle$.

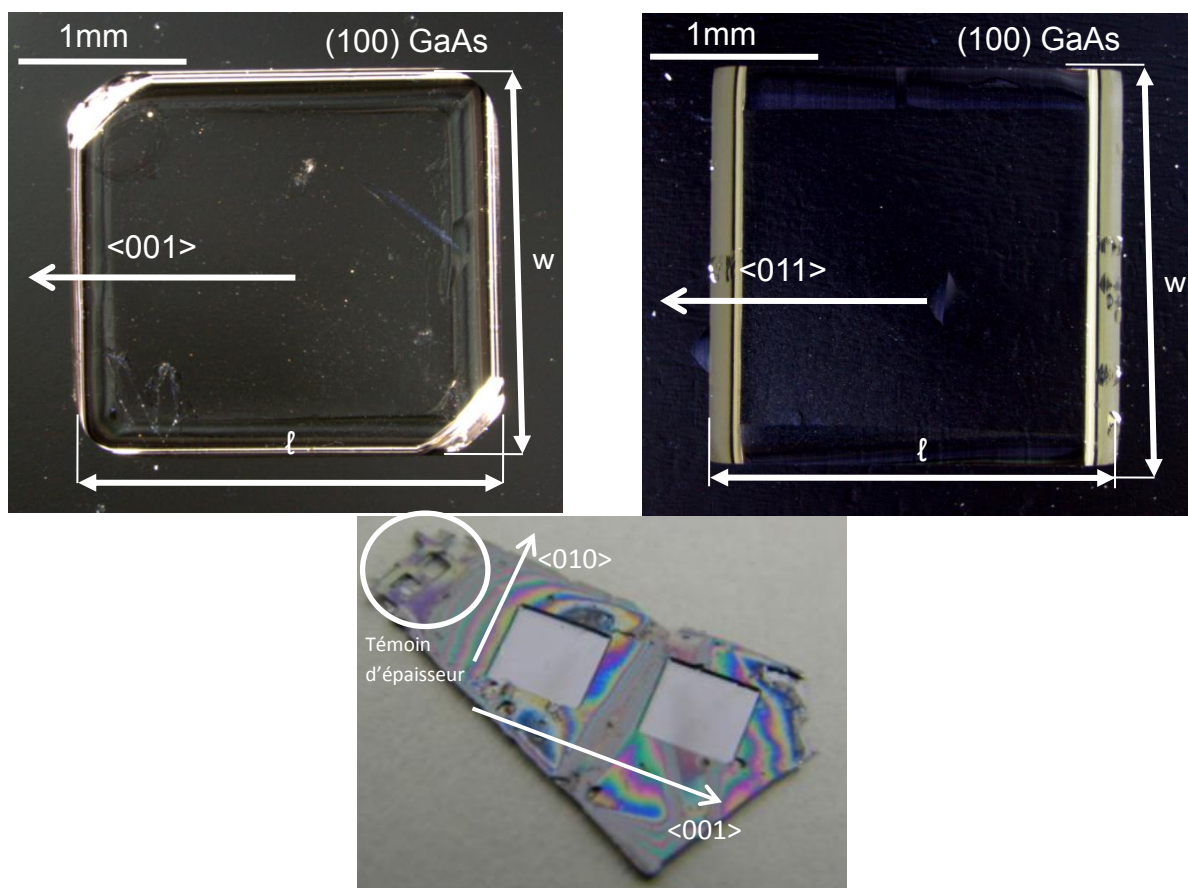


Figure 3.31 – En haut : membranes de 2 mm par 2 mm orientées respectivement dans les directions $\langle 001 \rangle$ (à gauche) et $\langle 011 \rangle$ (à droite). En bas : Réalisation d'un dispositif avec deux membranes orientées $\langle 001 \rangle$ et témoin d'épaisseur

Comme sur les simulations de Tellier et al ^[73] (Figure 3.22), nous observons sur les membranes orientées $\langle 011 \rangle$ les profils entrants (sombres, alignés dans la direction $\langle 011 \rangle$) et sortants (clairs, alignés dans la direction $\langle 01\bar{1} \rangle$) des cavités. Les sections de ces profils sont données dans la Figure 3.32 A et B. Le profil rentrant observé Figure 3.32 A est bien corrélé avec le plan (111)A, plan de plus grande lenteur de dissolution. Ce plan forme un angle théorique de 125.3° avec le plan de référence (100). la valeur moyenne expérimentale de cet angle est $\alpha=118^\circ$ ce qui est proche de la valeur théorique espérée et en accord avec les valeurs données en références ^[42, 63] dans la cas d'une attaque avec une solution combinant un acide et de l'eau oxygénée ($\text{H}_2\text{SO}_4 : \text{H}_2\text{O}_2 : \text{H}_2\text{O}$). Dans la Figure 3.32 A, il apparait que la gravure forme un profil composé de deux plans successifs orientés différemment. Les valeurs moyennes des angles sont $\beta_1=52^\circ$ et $\beta_2=30^\circ$ respectivement par rapport au plan de référence. L'angle β_1 correspond clairement à une facette (111)A. L'angle β_2 correspond à l'inclinaison de la facette situé entre le plan (112) et (113). Ces facettes sont aussi observées par Takebe et al. ^[56] ce qui peut s'expliquer par la présence d'un plan dont la lenteur est suffisamment grande pour qu'il soit présent à cette profondeur usinée. Sur les membranes orientées $\langle 001 \rangle$ nous observons ces profils entrants et sortants dans les angles des cavités. Les rebords de la cavité ont des profils identiques et leurs sections sont reprises dans la Figure 3.32 C. Comme espéré, ces profils exposent une première portion verticale coresspondant au plan (001) ou (010). Nous voyons que l'angle γ_1 forme un angle droit avec le plan de référence (100). Une facette orientée d' angle γ_2 approximativement de 45° joint la facette verticale (001) au plan de référence. Cette facette correspond à une facette (011), en accord avec les références ^[73] et nos estimations. Quelque soit le

profil étudié, nous observons qu'il n'existe aucun effet de bord vers les encastresments de la membrane. La Figure 3.32 A met en évidence un profil courbe à cet emplacement qui peut être expliqué par la faible anisotropie du processus de gravure.

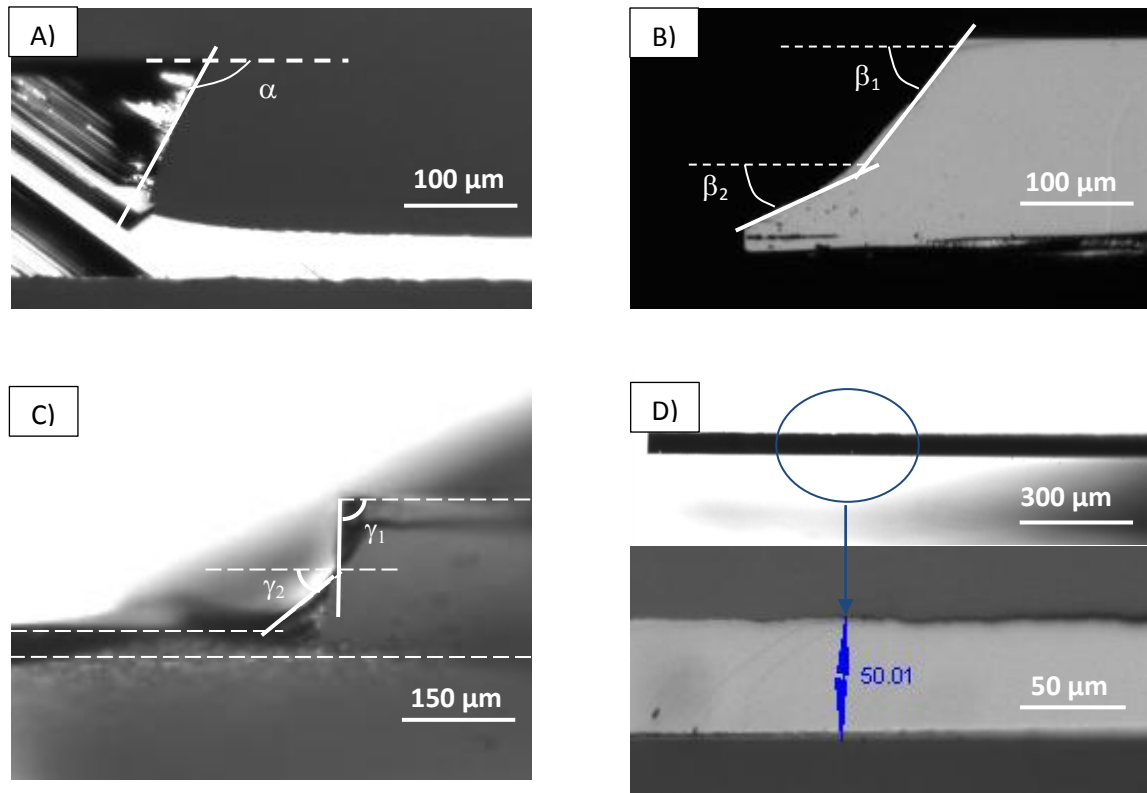


Figure 3.32 – Sections droites obtenues en clivant le wafer : section (011) (A), section (01 $\bar{1}$) d'un profil aligné <01 $\bar{1}$ > (B), section d'un profil aligné <001> ou <010> (C), sections à différentes échelles de la membrane (D).

La Figure 3.32 D montre une section de la membrane. A fort grossissement (en bas), et par étalonnage de notre microscope optique, nous pouvons évaluer l'épaisseur de notre membrane. Une épaisseur de $50\text{ }\mu\text{m} \pm 1\text{ }\mu\text{m}$ est alors mesurée et confirme la bonne réalisation de notre dispositif. Sur la vue plus large (en haut), nous pouvons vérifier que l'épaisseur reste constante et ce jusqu'aux encastresments de la membrane. Des mesures réalisées sur le profilomètre Alphastep ont permis de valider les profondeurs usinées ainsi que la planéité et la rugosité de la membrane.

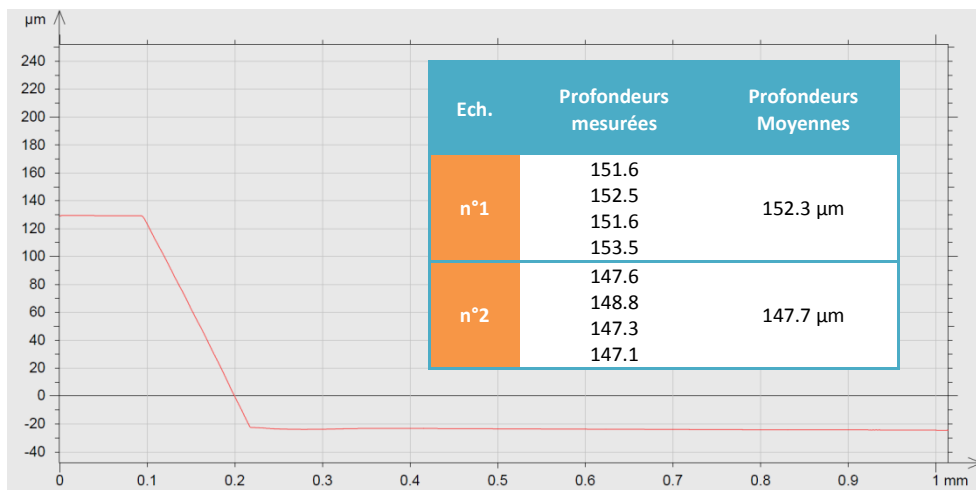


Figure 3.33 – Mesures de profondeur réalisée au profilomètre Alphastep de la cavité membranaire.

Les profondeurs relevées au profilomètre indiquent une profondeur moyenne de $152,3 \pm 0,7 \mu\text{m}$ pour le premier échantillon et de $147,7 \pm 1,1 \mu\text{m}$ pour le second. Ces valeurs autour de $150 \mu\text{m}$ diffèrent légèrement du fait certainement des épaisseurs différentes du substrat aminci. Les 4 points de mesure sont réalisés au centre de chacun des bords de la membrane et permettent de s'assurer de la planéité de la membrane. Des mesures complémentaires d'ondulation et de rugosité sont réalisées sur la membrane sur une distance de $500 \mu\text{m}$ pour valider respectivement le défaut de forme et l'état de surface après la gravure. Ces tracés sont présentés dans la Figure 3.34.

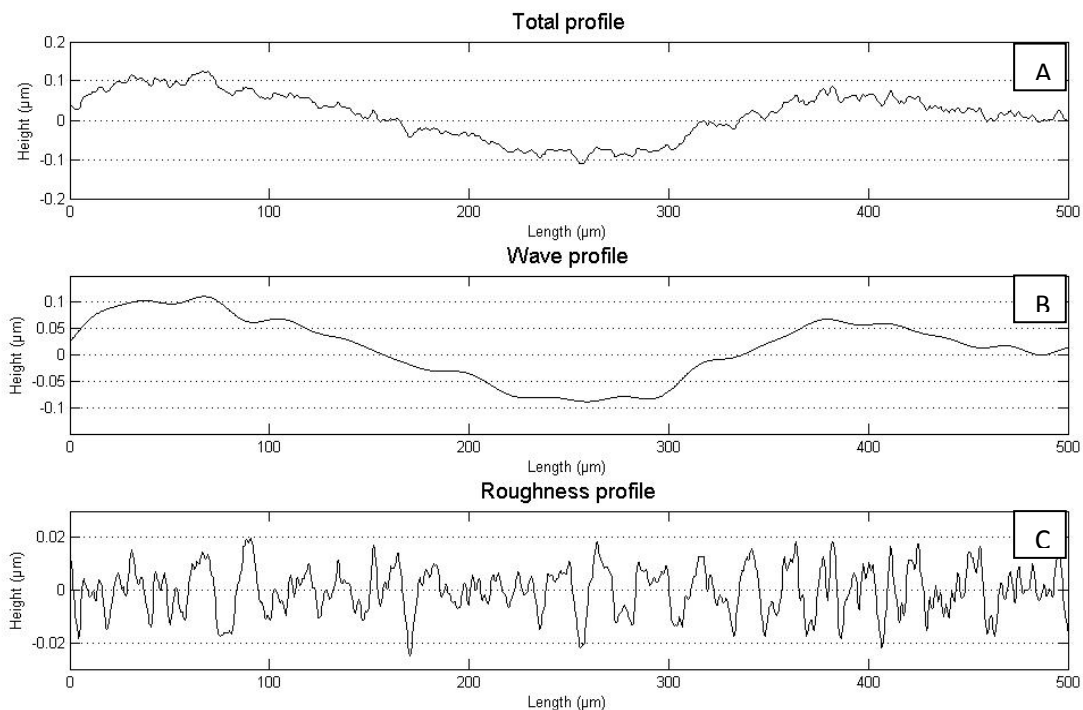


Figure 3.34 - Tracés des profils topographiques (distance de travail $500 \mu\text{m}$) à la surface de la membrane usinée : a) profil total, b) profil d'ondulation, c) profil de rugosité (longueur de coupure $80 \mu\text{m}$)

L'amplitude mesurée sur le profil de la surface varie entre -0.1 et 0.1 μm . Le profil d'ondulation (Figure 3.34 B) montre le défaut de forme généré par l'usinage, avec des ondulations de 300 μm environ. L'amplitude de ces ondulations reste faible ($\pm 0.1 \mu\text{m}$), ce qui ne devrait pas réduire les performances du résonateur. La rugosité de surface est obtenue pour une longueur de coupe de 80 μm . Les rugosités moyennes arithmétique et quadratique sont respectivement égales à $R_a = 10.5 \text{ nm}$ et $R_{ms} = 17.9 \text{ nm}$. Ces résultats sont légèrement différents de ceux des précédents tests présentés au §3.3.3 mais cette différence est due à la méthode de caractérisation [78] : zone testée plus grande, moins bonne résolution, rayon de courbure de la pointe plus importante... etc... Nous reviendrons sur la rugosité et la microstructuration à la surface de la membrane dans la section suivante.

3.5 Micro structuration de la surface d'arséniure de gallium

La structuration de surface joue un rôle important pour la conception d'une interface performante [79]. Le gain en sensibilité peut provenir à la fois d'une augmentation de la surface d'échange entre le milieu et le transducteur, augmentant potentiellement le nombre d'éléments pouvant être greffé en surface, mais aussi de l'organisation atomique particulière à la surface du matériau. Du fait de la dualité atomique Ga/As et de la structure zinc blende, les atomes exposés en surface vont varier suivant le plan cristallin utilisé. Le développement de techniques de structuration de surface permet de jouer sur ces deux paramètres. Des techniques de structuration par gravures ou par croissances peuvent être appliquées au GaAs pour conférer des propriétés particulières à la surface à l'échelle micrométrique ou nanométrique comme par exemple par gravure humide [80], par gravure électrochimique [81], par gravure sèche [82], par épitaxie [83] ou encore grâce à la formation de nanofils [84,85]. Dans cette section, nous nous intéresserons à la réalisation d'une microstructuration particulière par gravure humide, procédé utilisé pour la réalisation de notre capteur. Nous tâcherons de caractériser et d'expliquer les différences topographiques observées avec différentes solutions de gravure présélectionnées dans le paragraphe 3.2.4. Le protocole et les méthodes de caractérisation sont identiques à ceux présentés dans le paragraphe 3.3.1.

3.5.1 Influence de la composition du bain

Nous avons souhaité mettre en opposition les solutions de gravure 10 à 12 du Tableau 3.1, qui ont montré des propriétés particulièrement intéressantes dans le cadre de la fabrication de notre dispositif, aux 8 premières solutions de gravure de ce même tableau, connues pour l'excellente planéité de leur surface après usinage. La caractérisation des surfaces par imagerie AFM montre une surface très structurée à l'échelle micrométrique, aux motifs bien définis et d'amplitude importante pour les bains 9, 10, 11 et 12 alors que les autres bains n'ont pas généré de motifs particuliers pour les mêmes échelles. Par exemple, comparons la surface de GaAs (100) usinée à 10°C avec un bain 1 $\text{HNO}_3 : 1 \text{ H}_2\text{O}_2$ et 1 $\text{H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ (Figure 3.35).

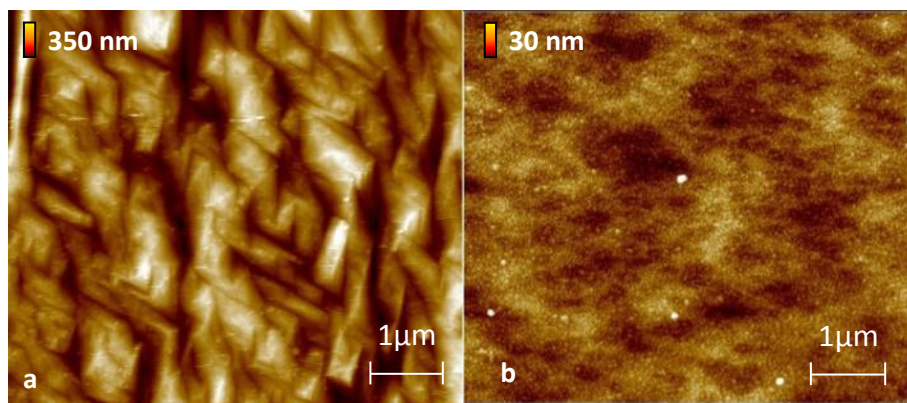


Figure 3.35 – Topographie d’une surface de GaAs (100) après gravure par une solution 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O (a) et 1 HNO_3 : 1 H_2O_2 (b) à 10°C.

La surface usinée avec le bain 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O montre une structure pyramidale et de motifs d’amplitude importante (échelle de hauteur de 350nm) tandis que la surface obtenue avec le bain 1 HNO_3 : 1 H_2O_2 conserve un aspect poli (échelle de hauteur de 30 nm). Les mesures de rugosité des images confirment ces observations en indiquant des valeurs rms respectives de 44.4 nm et 2.4nm.

De plus, les structures observées suivant les bains d’attaque utilisés sont d’amplitudes et de formes différentes. Les motifs générés par une attaque 1 NH_4OH : 1 H_2O_2 : 8 H_2O sur un échantillon de GaAs (211)A sont différents de ceux réalisés par une attaque 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O sur le même substrat (Figure 3.36) alors que le bain 1 H_2SO_4 : 5 H_2O_2 : 1 H_2O ne crée aucun motif. Ces résultats peuvent être généralisés. L’effet de la composition du bain d’attaque sur la structure de la surface a été observé pour différents plans cristallins d’arséniure de gallium [75] mais aussi sur d’autres matériaux [86].

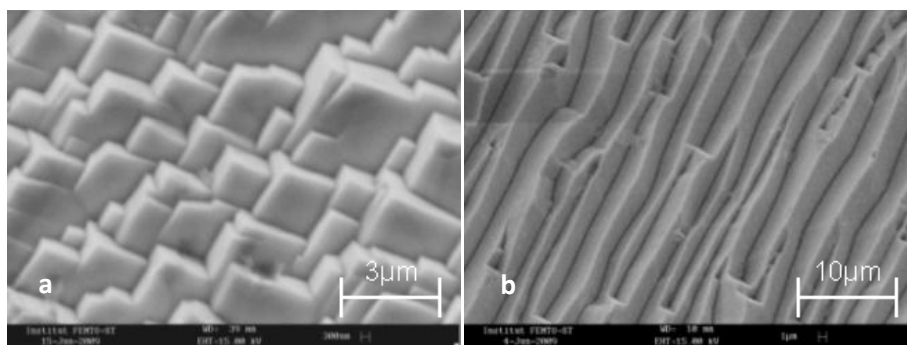


Figure 3.36 – Topographie d’une surface de GaAs (211)A après gravure par une solution 1 NH_4OH : 1 H_2O_2 : 8 H_2O (a) et 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O (b) à température ambiante.

Les motifs du bain NH_4OH sont pyramidaux tandis que le bain H_3PO_4 crée une structure ressemblant plus à des sillons. L’étude des topographies de surface peut être complétée par une étude cinétique des réactions entre ces trois bains et les différents substrats (Figure 3.37).

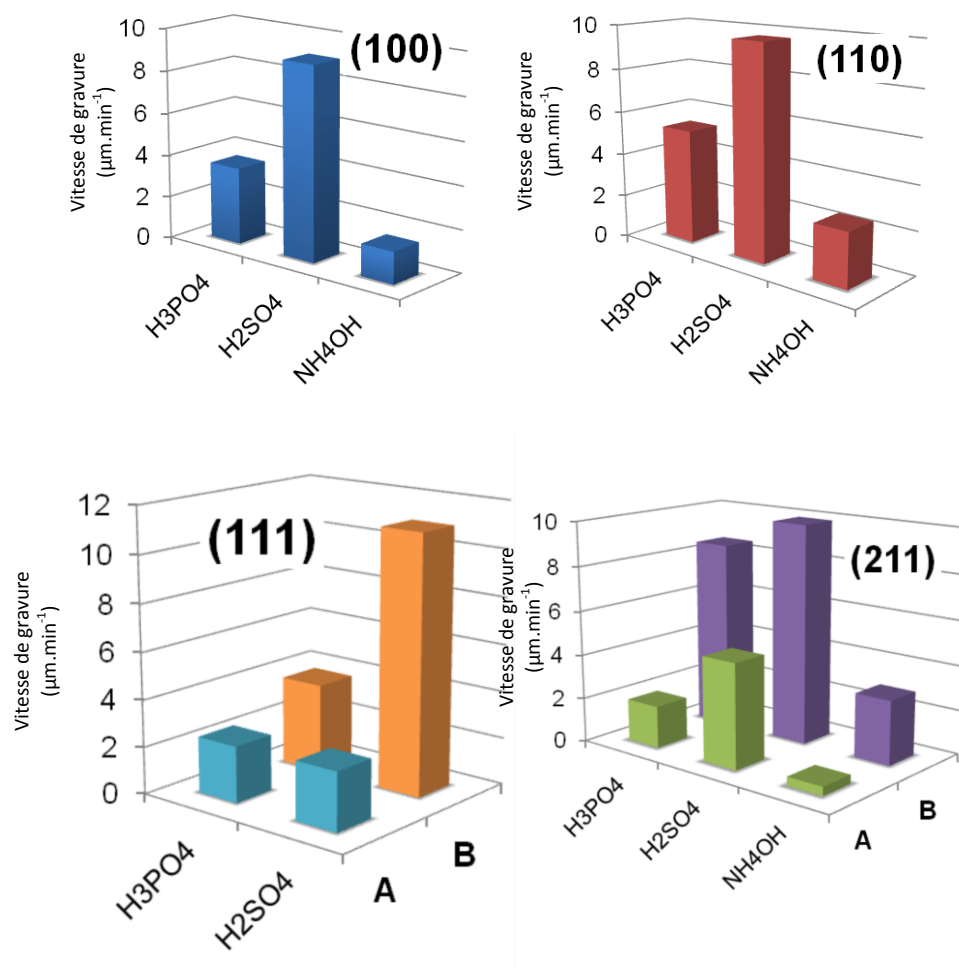


Figure 3.37 – Vitesse de gravure (en $\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$) des solutions 1 NH_4OH : 1 H_2O_2 : 8 H_2O , 1 H_2SO_4 : 5 H_2O_2 : 1 H_2O et 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O pour différentes orientations cristallines à température ambiante

Les vitesses d'attaque sont très variables suivant les solutions utilisées. Quelque soit les plans attaqués, la solution à base d'acide sulfurique est beaucoup plus rapide que celle à base d'acide phosphorique et le bain basique possède la plus faible vitesse. En première approximation, on peut dire que ces vitesses sont certainement influencées par les concentrations d'acide ou de base utilisées et ce point sera discuté dans le paragraphe suivant (§3.5.2). Les rapports des vitesses d'attaque n'étant pas constants d'un plan à l'autre, on ne peut pas affirmer que les vitesses dépendent uniquement de la concentration, la composition joue aussi un rôle. Une étude XPS proposé par Kang et al [58] confirme notre analyse en montrant la formation de liaisons spécifiques Ga-PO_4 et As-PO_4 lors d'une attaque avec un bain H_3PO_4 et de liaisons Ga-Cl lors d'une attaque avec un bain HCl . Si on reprend les solutions testées dans la référence [62], on voit que, suivant les réactifs utilisés les réactions sont plus ou moins favorables, se traduisant par une vitesse d'attaque plus élevée pour une réaction très favorable. Par exemple, une solution 1 HF : 1 HNO_3 : 1 H_2O est bien plus favorable qu'une solution 1 HBr : 1 HNO_3 : 1 H_2O car leurs taux d'attaques correspondants sont respectivement de $10 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ et $0,05 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$ montrant l'importance du choix de l'acide utilisé. L'oxydant joue aussi un rôle non négligeable comme nous pouvons par exemple le voir avec une réaction avec les solutions 1 HCl : 1 H_3PO_4 : 1 H_2O_2 et 1 HCl : 1 H_3PO_4 : 1 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ayant comme vitesse d'attaque respectivement 0.75 et $0.04 \mu\text{m}.\text{min}^{-1}$. Cette préférence de réaction explique en partie la structuration obtenue après gravure du GaAs . Les composés formés lors de l'oxydation entre les

atomes Ga et As et lors de la dissolution de ces oxydes ne sont pas identiques et créent une structuration par attaque préférentielle [42, 45, 55, 58, 61, 66, 67, 69, 70, 72, 87, 88]. Yoon et al. [70] caractérisent les compositions des surfaces usinées par un acide et une base. La surface initialement riche en Ga, est quasiment stœchiométrique pour une attaque basique et riche en As pour un acide en indiquant des ratios Ga/As respectifs de 1.4, 1 et 0.6. Ils complètent leur analyse par l'étude des oxydes créés et montre que leur composition est riche en arsenic. Ils expliquent ce phénomène par :

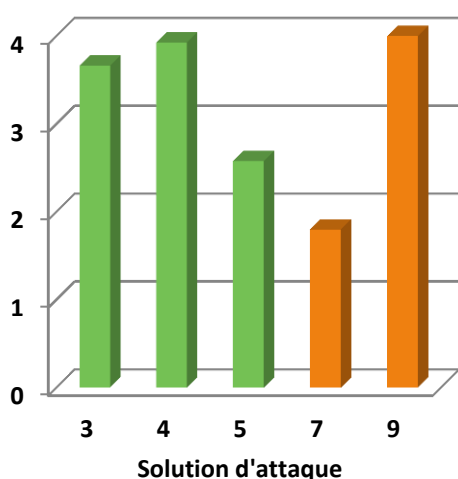
- la différence de solubilisation des atomes As / Ga et des oxydes Ga_2O_3 / As_2O_3 dans un milieu acide et basique,
- une plus grande réactivité des atomes As (§3.5.3). Ghidaoui [67] et al. confirment ces résultats et ajoutent que les ions Ga^{3+} ont une mobilité deux fois plus grande que celle des ions As^{3+} , ce qui expliquerait la forte concentration sur la surface en atome Ga pour un échantillon non attaqué.

La structuration de surface est donc dépendante de la réactivité préférentielle des atomes Ga ou As durant les étapes d'oxydation et de dissolution. Plus grande sera la sélectivité, plus l'amplitude des motifs sera grande. Ces affirmations restent cependant valables si la réaction est de type « réaction limitée ». Pour une réaction de type « diffusion limitée », la surface reste polie du fait de la limitation du transport des espèces.

3.5.2 Influence de la concentration du bain

Les bains 3, 4, 5, 7 et 9 ont été testés afin de vérifier l'influence de la composition de la solution lors de l'attaque. La Figure 3.38 reprend les résultats de ces essais.

Ra (nm) Rugosité de surface



| N° | Solution de gravure | Vitesse de gravure ($\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$) |
|----|--|--|
| 3 | 1 HNO_3 : 1 H_2O_2 : 1 CH_3COOH | 2.4 |
| 4 | 1 HNO_3 : 1 H_2O_2 | 8 |
| 5 | 1 HNO_3 : 1 H_2O_2 : 1 H_2O | 4 |
| 7 | 1 H_3PO_4 : 1 H_2O_2 : 1 H_2O | 1.6 |
| 9 | 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O | 3.6 |

Figure 3.38 - Influence de la composition des solutions sur la vitesse d'attaque du GaAs (100) et sur la rugosité surfacique (Ra) à température ambiante.

L'ajout d'acide acétique ou d'eau désionisée dans la solution $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O}_2$ (bains 3 à 5) permet une diminution de la vitesse d'attaque mais aussi une diminution de la rugosité. Cette diminution de rugosité est plus prononcée pour la solution diluée dans l'eau désionisée que celle enrichie en CH_3COOH , certainement due aux modifications des réactions chimiques produites. Le solvant permet donc principalement de réduire les vitesses d'usinage mais aussi de modifier les réactions. De plus, le ratio acide/oxydant est fondamental et la modification de ce ratio induit des comportements complètement différents. La solution n°7, plus concentrée en acide que la solution 9, a une vitesse de gravure deux fois plus faible et une surface bien moins rugueuse. La cinétique de la réaction globale est donc limitée par la faible vitesse d'oxydation et/ou par la moins bonne mobilité des espèces due à la forte viscosité de l'acide. Ce phénomène de viscosité est étudié dans la littérature [40, 44]: il est avéré qu'une forte viscosité accroît l'épaisseur du film interstitiel entre le matériau et la solution où les espèces interagissent (paramètre δ de la loi de Fick, Figure 3.12). Si cette couche devient plus importante que les motifs de rugosité, la surface aura tendance à être polie du fait d'une migration plus rapide vers les pics qu'au fond des vallées (Figure 3.15, à gauche). A l'inverse, si l'épaisseur du film est petite, la viscosité n'aura pas d'influence sur la structure (Figure 3.15, à droite). Pour passer d'un comportement à l'autre, il convient d'ajuster la viscosité en régulant le rapport des concentrations entre acide et diluant. Notons ici que nous pouvons avoir deux types de réaction pour l'obtention d'une surface polie :

- soit la vitesse d'attaque est importante, la viscosité modérée et les réactions chimiques très rapides
- soit au contraire la vitesse est très lente, la viscosité forte et les réactions chimiques modérées.

Dans les deux cas, la diffusion des espèces est toujours le facteur limitant.

Les triangles de Gibbs [40-42, 46] permettent d'estimer les cinétiques des réactions en fonction des ratios des concentrations en acide ou base, oxydant et diluant. Avec cette représentation, Mori et Watanabe [46] s'intéressent au système $x \text{H}_3\text{PO}_4 : y \text{H}_2\text{O}_2 : z \text{H}_2\text{O}$ et estiment les vitesses d'attaque en fonction des ratios x, y, z . 4 comportements de réaction sont identifiés et reportés sur le diagramme. Les 4 facteurs limitant les cinétiques de ces réactions sont : a) l'adsorption de H_2O_2 , b) la diffusion de H_2O_2 , c) la dissolution des produits oxydés et d) l'adsorption de H_3PO_4 . Si on s'intéresse par exemple au ratio 1 : 9 : 1, la cinétique de la réaction est de type c, limitée par la dissolution des oxydes formés en présence de H_2O_2 . La gravure sera donc préférentielle et conduira à l'obtention d'une surface structurée. Pour le second bain testé avec ce système, de ratio 1 : 1 : 1, la cinétique est de type b, limitée par la diffusion de H_2O_2 . La surface résultante de cette attaque sera donc polie.

Les résultats précédents mettent en avant le comportement très intéressant du bain 1 $\text{H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{H}_2\text{O}_2 : 1 \text{H}_2\text{O}$ pour l'obtention d'une structuration de surface particulière pour notre membrane de GaAs. Nous avons de plus sélectionné cette solution pour la réalisation de notre dispositif (§ 3.3.4.1). Dans les parties suivantes, nous nous intéresserons uniquement à cette solution d'attaque.

3.5.3 Plans cristallins

La solution d'attaque définie ci-dessus est maintenant testée sur des substrats d'orientation différente. Les images MEB de ces surfaces sont exposées Figure 3.39.

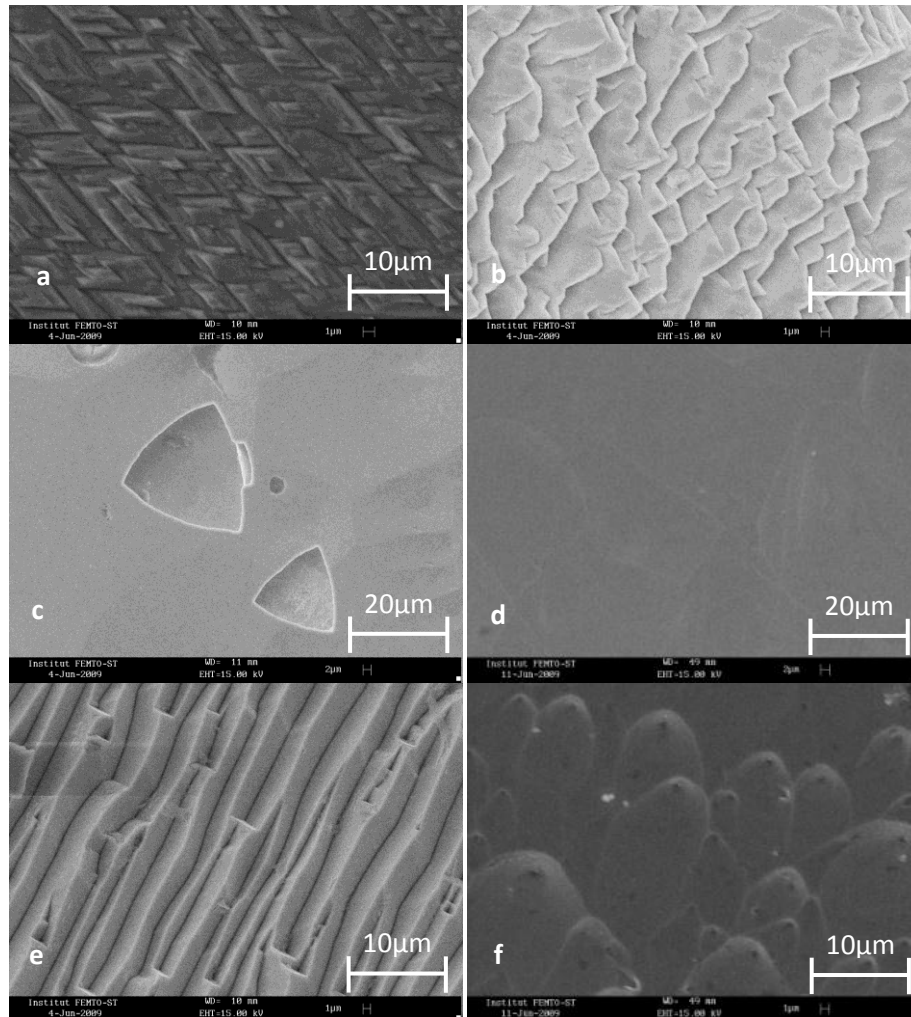


Figure 3.39 - Topographie des surfaces de GaAs d'orientation cristalline différente après immersion à température ambiante dans un bain $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ - a) (100), b) (110), c) (111)A, d) (111)B, e) (211)A et f) (211)B. Images réalisées au microscope électronique à balayage (MEB).

Les usinages des plans (100), (110) et (211)A ont formé des structures bien organisées tandis que les autres plans n'affichent pas de structure caractéristique :

- la surface (100) est constituée de motifs géométriques en « L imbriqué » de $1 \mu\text{m}$ de large environ,
- la surface (110) est composée de terrasses de $4 \mu\text{m}$ d'arrête,
- la surface (211)A expose des sillons alignés de $20 \mu\text{m} \times 4 \mu\text{m}$ environ.

Tous ces motifs sont alignés suivant une direction privilégiée. Pour mettre en évidence cet alignement, nous avons estimé les valeurs moyennes arithmétiques (R_a) parallèlement et

perpendiculairement aux motifs. Pour la surface (211)A par exemple, les valeurs de Ra respectives sont de $0.24\mu\text{m}$ et $0.95\mu\text{m}$ ce qui démontre bien l'orientation privilégiée des motifs. La direction $\langle 01\bar{1} \rangle$ est définie comme préférentielle par Kang et al. [58]. D'après les formes très géométriques obtenues, on peut penser que la microstructure de surface est induite par une variation de vitesse entre les plans cristallins. Nous avons donc souhaité mesurer les différences de vitesse pour ces plans cristallins (Figure 3.40).

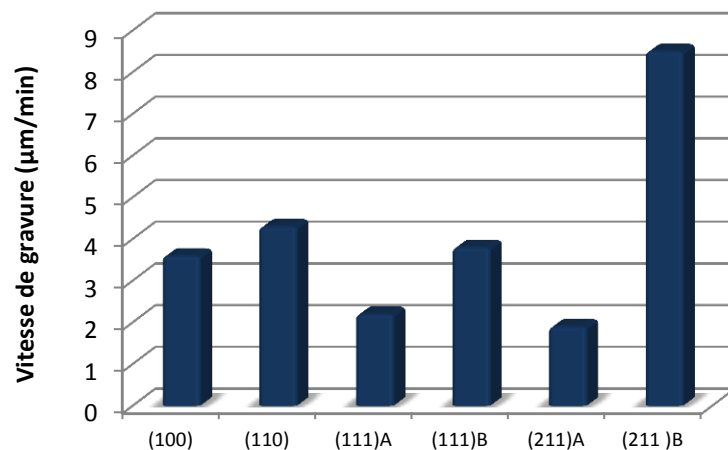


Figure 3.40 –Vitesse de gravure du GaAs dans la solution $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ pour différentes orientations cristallines à température ambiante

Ces mesures de vitesse de gravure montrent une gravure anisotrope prononcée du bain. La vitesse de gravure décroît suivant les plans (211)B, (110), (111)B, (100), (111)A et (211)A, ce qui est en accord avec les résultats observés dans la littérature pour ce bain [46, 58] mais aussi avec d'autres solutions d'attaque [40, 42, 45, 53, 62, 63, 70, 72, 88].

Les variations de vitesse entre les plans riches en atome de gallium (A) et ceux riches en atome d'arsenic (B) montrent une plus grande réactivité des atomes d'arsenic. La plus forte réactivité des atomes d'arsenic est d'ailleurs montrée dans plusieurs articles durant la formation d'oxyde sur la surface de GaAs, les éléments As_2O_3 étant préférentiellement formés durant cette étape [64, 67, 68, 89]. Les modifications de vitesse de gravure s'expliquent aussi par la différence de configuration et de densité des atomes sur la surface ce qui va induire une modification des vitesses de réaction [40, 43, 45]. Les liaisons existantes entre les atomes présents en surface et le matériau massif vont aussi agir comme un frein sur la réaction. MacFadyen [45] met en évidence que le nombre de liaisons et le type d'atomes présents en surface déterminent la stabilité de la surface. Il classe alors par ordre de stabilité les surfaces 3A, 3B, 2A, 2B, 1A et 1B où le nombre correspond au nombre de liaisons et A ou B les atomes respectifs Ga ou As. Il montre que les atomes A ou B triplement fixés sont bien plus stables que les 4 autres états et qu'un atome 3A est bien plus stable qu'un 3B. Par exemple, la surface (111)A est composée d'atomes de gallium fixés par 3 liaisons ce qui rend la surface peu réactive et engendre une vitesse de gravure peu élevée (figure 3.41 C).

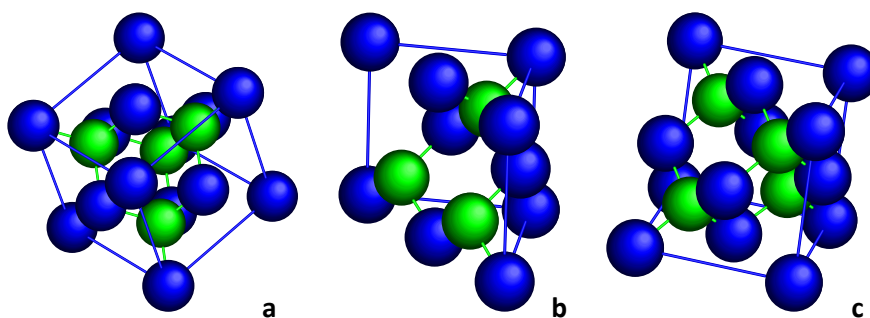


Figure 3.41 – Composition atomique des plans (100) (a), (110) (b) et (111)A (c)

La différence de gravure entre les plans cristallins crée donc une microstructuration de surface particulière suivant les plans cristallins de plus faible vitesse de gravure. Dans notre capteur, le choix du plan cristallin (100) a été fixé lors de la conception du transducteur. Les possibilités de structuration seront donc limitées par ce critère.

3.5.4 Influence de la température et de l'agitation

Afin de caractériser l'influence de la température sur la microstructuration, nous avons immergé des échantillons provenant de deux wafers d'orientation (100) et (110) dans une solution 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O et fait varier les températures entre -10°C et 15°C . Pour établir un comparatif, nous avons interrompu la gravure à intervalle de temps régulier en immergeant l'échantillon dans de l'eau désionisée. On mesure alors la profondeur attaquée puis on continue l'attaque jusqu'à ce qu'une profondeur de $20\text{ }\mu\text{m}$ soit atteinte.

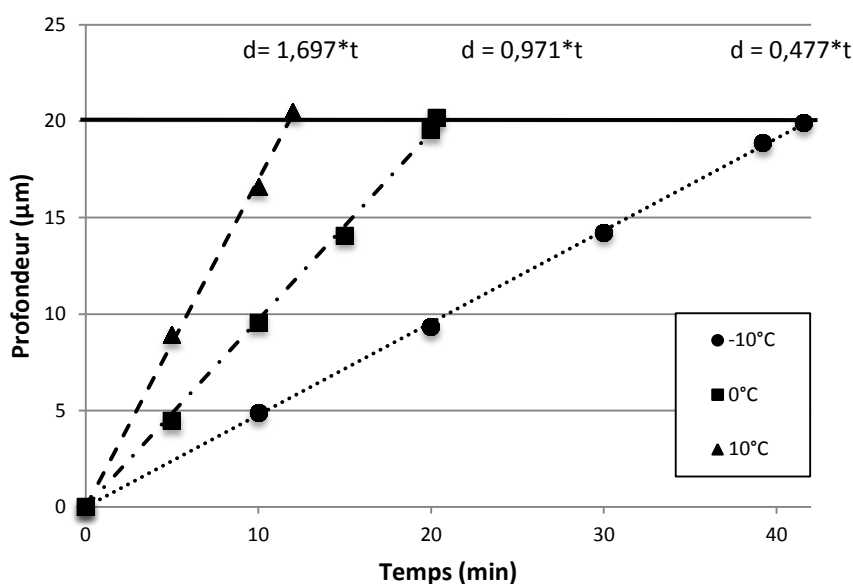


Figure 3.42 – Gravure du GaAs (100) par une solution 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O à -10°C , 0°C et 10°C

A partir de ces mesures, nous pouvons tracer la courbe d'Arrhenius présentant l'évolution des vitesses de gravure en fonction de la température pour les plans (100) et (110). Ces courbes sont présentées au paragraphe 3.2.2.2 ainsi que les commentaires associés.

La caractérisation des surfaces de GaAs, usinées à une profondeur constante de 20 μm et à différentes températures, complète l'étude menée au paragraphe 3.2.2.2. La topographie de surface de GaAs après gravure humide dépend donc à la fois de l'orientation cristalline mais aussi de la température lors de la gravure (Figure 3.43).

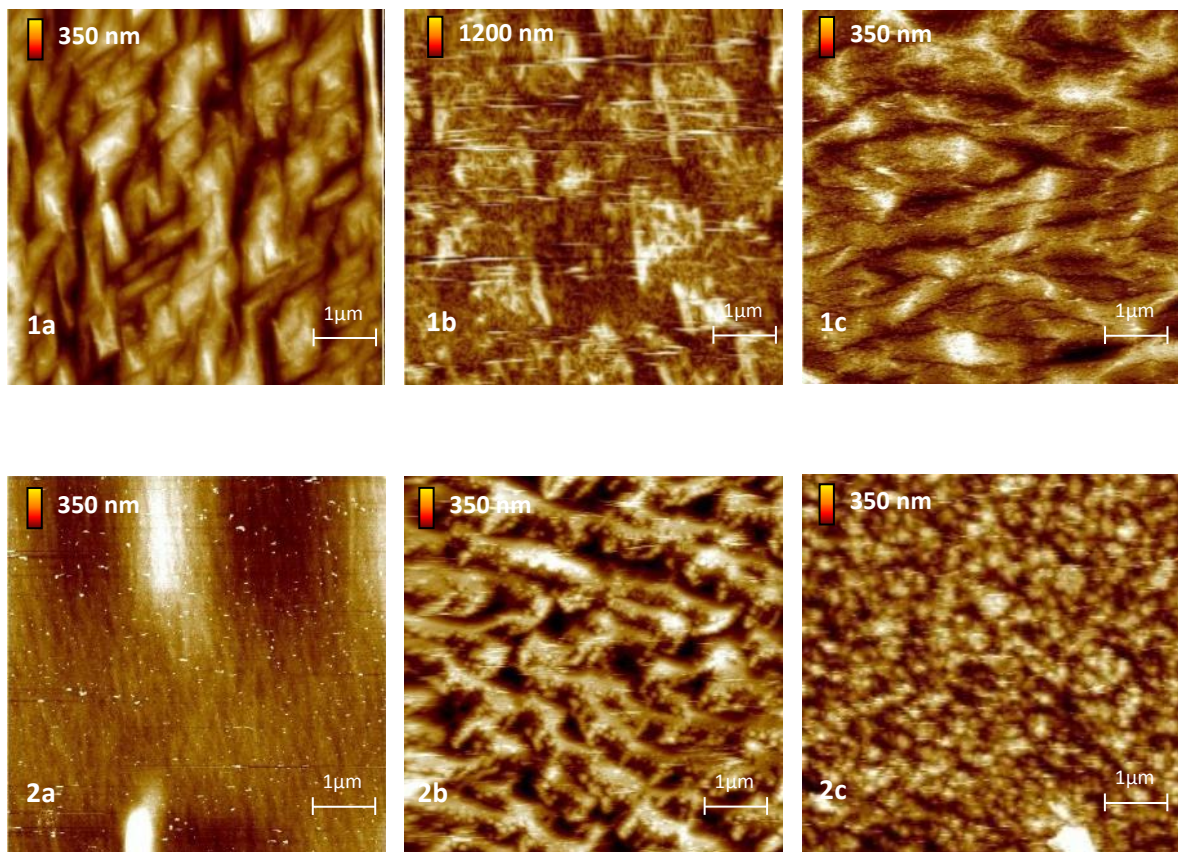


Figure 3.43 – Images AFM des surfaces usinées à 20 μm de profondeur 1) plan (100) à T=10°C (a), à T=0°C (b) et T=-10°C (c) ; 2) plan (110) à T=10°C (a), à T=0°C (b) et T=-10°C (c)

Les motifs varient à la fois en forme et en amplitude. Le plan (100) usiné à 0°C est composé de motifs très amples sous forme de « dômes » assez hétérogènes tandis que les échantillons usinés à 10°C et -10°C montrent une structure pyramidale très similaire et homogène. Pour le plan (110), la surface obtenue à 0°C est structurée et les motifs sont de hauteur et de forme similaires aux échantillons (100) à 10°C et -10°C, alors que la même surface à 10°C reste très plane (échelle de hauteur de 50nm). A -10°C, les motifs sont complètement différents et présentent des formes globulaires plus petites, quasi granuleuses, réparties densément sur la surface.

Ces résultats sont très surprenants car nous nous attendions à avoir des motifs similaires pour un même plan cristallin et des amplitudes croissantes en fonction de l'augmentation de température. Nous pensions que la réactivité du bain lors des phénomènes d'oxydation et de dissolution (§3.2.1) serait conservée, engendrant toujours les mêmes motifs, et qu'une augmentation de la vitesse de réaction allait accroître proportionnellement les amplitudes de ces motifs. Une hypothèse possible est une variation différente de chaque réaction en fonction de la température. En effet, 4 réactions ont lieu pendant l'attaque (2 oxydations et 2 dissolutions) ayant chacune une évolution qui leur est propre. La sélectivité du bain est donc modifiée ce qui génère des motifs très différents. Prenons l'échantillon de GaAs (110) usiné dans un bain 1 H₃PO₄ : 9 H₂O₂ : 1 H₂O à 10°C par exemple (Figure 3.43 2a), l'aspect poli de la surface démontre qu'il n'y a pas de sélectivité entre les 4 réactions différentes se produisant à la surface. Or, nous sommes toujours en « réaction limitée » (démontré dans la courbe d'Arrhénius) et on ne peut donc pas expliquer l'aspect poli de la surface par une réaction de type « diffusion limitée » (§3.2.2.1), seule une compensation des cinétiques de réaction peut supprimer le caractère sélectif du bain. De même, les surfaces des échantillons de GaAs (110) usinés avec ce même bain à 0°C et -10°C (Figure 3.43 1a et 1c) sont très proches, on peut penser ici que les cinétiques restent identiques malgré la différence de température. Dans la littérature, à notre connaissance, seul Landis et al. [90] souligne ce phénomène en mettant en évidence la différence de réflectance et de structuration entre une surface de GaAs usiné avec un bain 1 H₂SO₄ : 1 H₂O₂ : 1 H₂O aux alentours de 0°C et à température ambiante. Il n'explique cependant pas ce phénomène.

Le tableau suivant présente un résumé des vitesses de gravure et des valeurs de rugosité Ra et Rms des échantillons de GaAs pour diverses solutions d'attaque et à températures différentes. En fonction de la topographie de surface désirée, polie ou structurée, le tableau indique la solution d'attaque et les paramètres à choisir.

| Surface | Orientation cristalline | Composition de la solution d'attaque | T (°C) | Vitesse de gravure (μm.min ⁻¹) | Rms / Ra (nm) |
|------------|-------------------------|---|--------|--|---------------|
| Poli | (100) | 1 H ₂ SO ₄ : 2 HCl : 3 K ₂ Cr ₂ O ₇ | 22 | 1.2 | 4.5 / 3.1 |
| | | 1 H ₂ SO ₄ : 2 HCl : 3 K ₂ Cr ₂ O ₇ / Sous agitation | 22 | 2.8 | 5.9 / 4.1 |
| | | 4%Br ₂ : CH ₃ OH | 22 | / | 2.3 / 1.7 |
| | | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ : 1 CH ₃ COOH | 22 | 2.4 | 4.7 / 3.7 |
| | | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ | 10 | 4 | 2.6 / 2 |
| | | | 22 | 8 | 6.2 / 3.9 |
| | | 1 HNO ₃ : 1 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O | 22 | 4 | 3.2 / 2.6 |
| | | 1 H ₃ PO ₄ : 1 H ₂ O ₂ : 1 CH ₃ OH | 22 | 0.7 | 3 / 2.4 |
| | | 1 H ₃ PO ₄ : 1 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O | 22 | 1.6 | 2.4 / 1.8 |
| | | 1 H ₃ PO ₄ : 9 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O | 10 | 2.4 | 5 / 3.2 |
| Structurée | (100) | 1 H ₃ PO ₄ : 9 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O | -10 | 0.47 | 45.6 / 37.1 |
| | | | 0 | 0.94 | 121.5 / 95.8 |
| | | | 10 | 1.70 | 47.2 / 37.9 |
| | (110) | 1 H ₃ PO ₄ : 9 H ₂ O ₂ : 1 H ₂ O | -10 | 0.51 | 44.8 / 36.1 |
| | | | 0 | 1.15 | 72.2 / 57.6 |

Tableau 3.4 – Vitesse de gravure et rugosité des substrats de GaAs (100) et (110) après gravure humide par différentes solutions dans plusieurs conditions de température.

3.5.5 Microstructuration de la membrane

Dans le tableau précédent, les paramètres de rugosité de la solution de gravure 1 H₃PO₄ : 9 H₂O₂ : 1 H₂O à 0°C diffèrent de ceux obtenus lors de la réalisation de la membrane où la surface conserve un

aspect poli avec des valeurs de rugosité relativement faibles (§3.4.4). Nous expliquons cette différence par la modification de l'agitation du bain et la position de l'échantillon lors de la gravure. Pour microstructurer la surface, nous n'avons en effet pas agité la solution et la face usinée était orientée vers le haut, contrairement à la réalisation de notre membrane où la face gravée est orientée vers le bas et la solution de gravure fortement agitée.

En conservant les conditions d'agitation et de position de l'échantillon lors de la gravure de la membrane, il est nécessaire de modifier un ou plusieurs autres facteurs (concentration, composition, température,...etc...) si l'on souhaite obtenir une structuration particulière de la surface. Afin de conserver une faible vitesse de gravure, nous avons fixé la température à 0°C comme initialement et conservé les mêmes réactifs du fait de la grande stabilité de ce bain dans le temps (nécessaire pour garantir les dimensions de la structure). En réajustant les concentrations des différents réactifs, nous avons pu obtenir une surface très structurée avec des motifs particuliers avec le bain $3 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 1 \text{ H}_2\text{O}_2 : 6 \text{ H}_2\text{O}$. La Figure 3.44 présente la structure obtenue avec cette solution de gravure lors d'un essai de réalisation d'une membrane. La très forte rugosité mesurée ici (400 nm environ comparativement à moins de 100 nm environ) s'explique par la plus grande profondeur usinée.

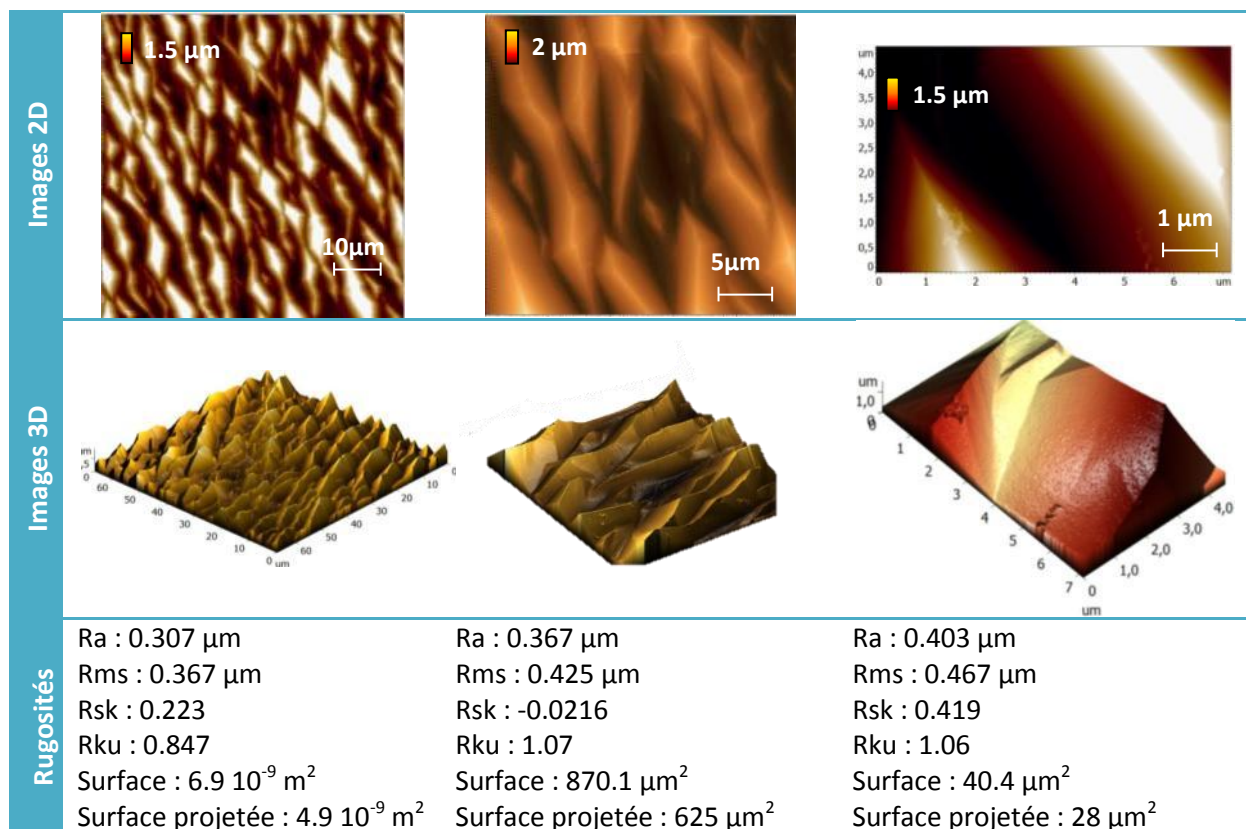


Figure 3.44 - Structure obtenue après usinage de GaAs (100) par un bain $3 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 1 \text{ H}_2\text{O}_2 : 6 \text{ H}_2\text{O}$ à $T=0^\circ\text{C}$ et sous agitation (500tr/min). Profondeur d'usinage 150μm.

3.5.6 Intérêt d'une microstructuration spécifique

A l'échelle millimétrique et jusqu'à une résolution de quelques microns, l'analyse de l'état de surface permet d'identifier les défauts géométriques de la surface, sa rugosité, afin de les corrélérer avec le

comportement du système global. Ainsi, lors de la caractérisation de la membrane par exemple, nous aurions pu essayer de corrélérer le défaut de forme observé ou la rugosité avec les performances du résonateur. A l'échelle micrométrique, et jusqu'à une résolution de quelques nanomètres, l'étude des caractéristiques surfaciques permet de mieux comprendre les corrélations qui peuvent exister entre la microgéométrie et la fonction ou le comportement d'une surface. Dans le cadre de la réalisation d'un biocapteur à transduction acoustique, il est intéressant par exemple de se pencher sur l'influence de la microstructure sur la propagation des ondes acoustiques et sur le greffage de biomolécules.

Le greffage de biomolécules peut en effet grandement différer suivant les caractéristiques de la surface. Nous y reviendrons plus en détail au chapitre suivant mais le greffage direct ou indirect via une interface chimique dépend grandement des propriétés électriques et chimiques de la surface. En développant une microstructuration particulière, nous espérons développer ainsi deux voies afin d'accroître la sensibilité de notre dispositif :

- une microstructuration à l'échelle micrométrique : Cette microstructuration permet d'augmenter la surface d'échange entre la partie sensible du résonateur et le milieu à doser. Nous espérons ainsi accroître la capacité de bio détection par une grande quantité de molécules fixées à la surface du transducteur et ainsi favoriser les interactions possibles entre la surface d'échange et les analytes présentes en solution. Nous veillerons cependant à ce que cette microstructuration ne perturbe pas la propagation des ondes acoustiques, c'est-à-dire que la largeur moyenne des motifs soit très inférieure à la longueur d'onde du résonateur [36-38].
- une organisation particulière de la surface à l'échelle atomique : Nous avons observé que, suivant le processus de gravure utilisé, la composition, l'état électrique et chimique de la surface étaient modifiés ce qui influence très certainement l'assemblage de molécules sur cette surface.

3.5.6.1 Gain surfacique

Pour des dimensions latérales définies, la microstructuration tridimensionnelle d'une surface permet d'accroître son aire. Plus la surface d'échange entre le transducteur et le milieu à tester sera importante, plus on aura de chance de détecter des interactions rares ou des analytes présents en faible quantité et donc d'accroître la sensibilité de notre capteur. Un critère permettant de calculer le gain engendré par cette structuration est le paramètre de rugosité R_s . Le paramètre R_s est le ratio entre l'aire de la surface actuelle et l'aire de la même surface projetée, c'est-à-dire l'aire de la zone analysée.

$$R_s = \frac{\text{aire de la surface actuelle}}{\text{aire de la surface projetée}}$$

A partir des images AFM, l'aire de la surface mesurée est calculée en estimant l'aire d'une facette composée de 4 points de mesure (4 pixels de l'image) et en l'additionnant avec celles des autres

facettes de l'image constituée des pixels voisins. L'aire de la facette est calculée en estimant l'aire de deux triangles par la formule de Heron, chaque triangle reliant 3 pixels entre eux. L'image ci-dessous présente la méthode utilisée pour mesurer la surface [91].

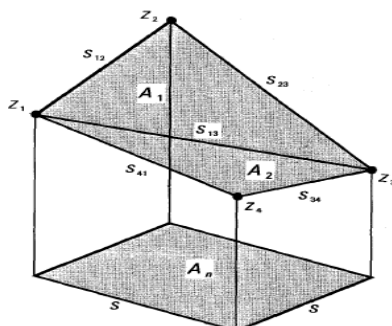


Figure 3.45 – Méthode utilisée pour calculer le gain en surface : l'aire de la surface actuelle est égale à l'addition des aires des triangles A_1 et A_2 déterminées par la formule de Heron, l'aire projetée est définie par l'aire du rectangle A_n .

En appliquant cette méthode aux images présentées Figure 3.44, le gain surfacique obtenu est d'environ 1.4. De même, la Figure 3.43 1b fournit un paramètre R_s égale à 1.6. A titre de comparaison, les solutions de gravure conférant un aspect poli à la surface (cf Tableau 3.4) ont un gain surfacique inférieur à 1%. Ces valeurs importantes laissent supposer une augmentation possible du nombre de molécules greffées d'un facteur 1.5 qui devrait permettre d'accroître la sensibilité de notre dispositif, à condition que cette microrugosité ne soit pas néfaste à la propagation des ondes acoustiques.

3.5.6.2 Organisation particulière de la surface

La structure micrométrique que nous avons révélée est d'un ordre de grandeur supérieur aux molécules que nous souhaitons greffer (échelle nanométrique). Il serait de plus intéressant de compléter cette étude sur la structuration de surface, mais cette fois à une échelle nanométrique, afin d'étudier l'influence de la structuration sur le greffage de biomolécules. Des papiers récents [34, 35] montrent par exemple les effets, les avantages mais aussi les limites de la nanostructuration d'une surface d'or sur la sensibilité et l'efficacité du capteurs.

En fonction de la solution d'attaque utilisée, du plan cristallin étudié, nous avons vu que la composition atomique à la surface de GaAs était modifiée par gravure humide [64, 68, 89], révélant des microplans particuliers à la surface du matériau. Ainsi, la composition atomique est modifiée laissant apparaître une surface généralement stœchiométrique [61, 70] dans le cas d'une attaque basique ou riche en atomes As dans le cas d'une gravure acide. L'organisation particulière au niveau atomique de la surface permet d'envisager une réactivité différente avec le milieu environnant [70, 92] ou pour le greffage de molécules thiolées [93].

Sur les images Figure 3.44, nous observons la configuration particulière de la surface de GaAs (100) attaquée par la solution de gravure $3 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 1 \text{ H}_2\text{O}_2 : 6 \text{ H}_2\text{O}$ à 0°C et sous forte agitation. Les motifs pyramidaux régulièrement répartis sur la surface font penser à des microplans révélés lors de l'étape de gravure. En étudiant les paramètres de rugosité d'aplatissement (Rku , Kurtosis) et d'asymétrie (Rsk , Skewness), nous pouvons essayer de décrire la surface. Le paramètre d'asymétrie Rsk proche de zéro montre que la surface est composée d'environ autant de pics que de vallées, une valeur supérieure à zéro traduisant une surface composée majoritairement de pics et inférieure à zéro majoritairement de vallées. Le paramètre Rku , traduisant la répartition des motifs de rugosité (égal à 3 : distribution normale ; inférieur à 3 : distribution uniforme et supérieur à 3 : distribution sous forme de motifs éparses), est égal à 1 et traduit une surface dont la répartition des motifs de rugosité suit une loi de probabilité uniforme.

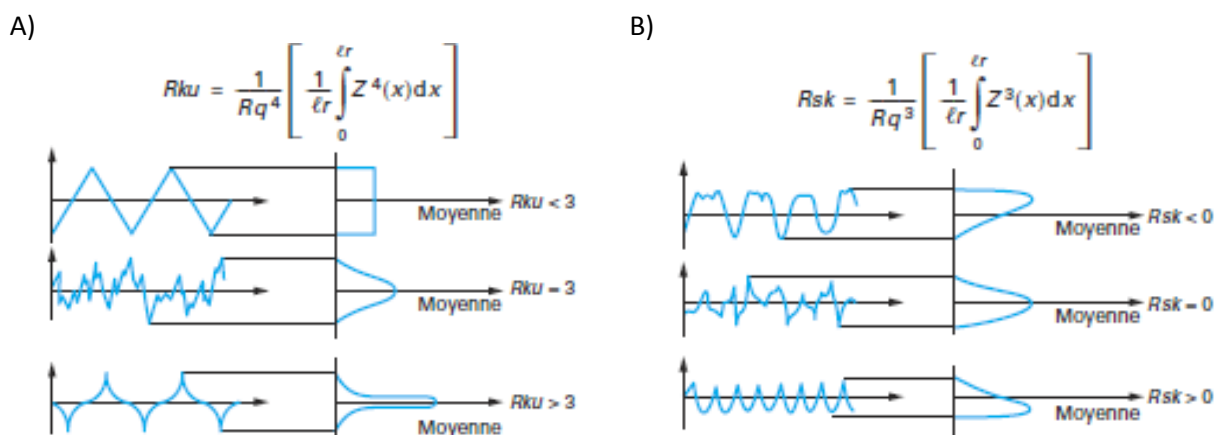


Figure 3.46 – Description de la surface grâce au facteur d'aplatissement Rku et au facteur d'asymétrie Rsk [94]..

Ces deux paramètres laissent donc penser à une surface composée d'une structure très homogène présentant des motifs périodiques de forme triangulaires. Ces formes périodiques triangulaires peuvent être corrélées à la présence de petits plans cristallins formés lors de la gravure. En analysant les sections de quelques motifs, nous voyons que les profils sont très semblables d'une coupe à l'autre et nous pouvons mesurer les angles des facettes révélées. Comme nous le voyons Figure 3.47, les facettes présentent un angle d'environ $20,5^\circ$ avec le plan de référence. Les facettes pourraient donc être orientées (117) car l'angle théorique de cette facette avec le plan (001) est de $21,42^\circ$ [75]. La présence de ces facettes de composition atomique distincte de celle de la surface initiale confère des fonctionnalités surfaciques différentes. Une étude visant à valider l'influence de l'organisation cristalline sur le greffage est envisagée et vient de débuter. Elle permettra de déterminer si ce type d'organisation particulière de la surface est un avantage ou au contraire un inconvénient au greffage de biomolécules sur la surface de GaAs (100), utilisée pour la fabrication du biocapteur.

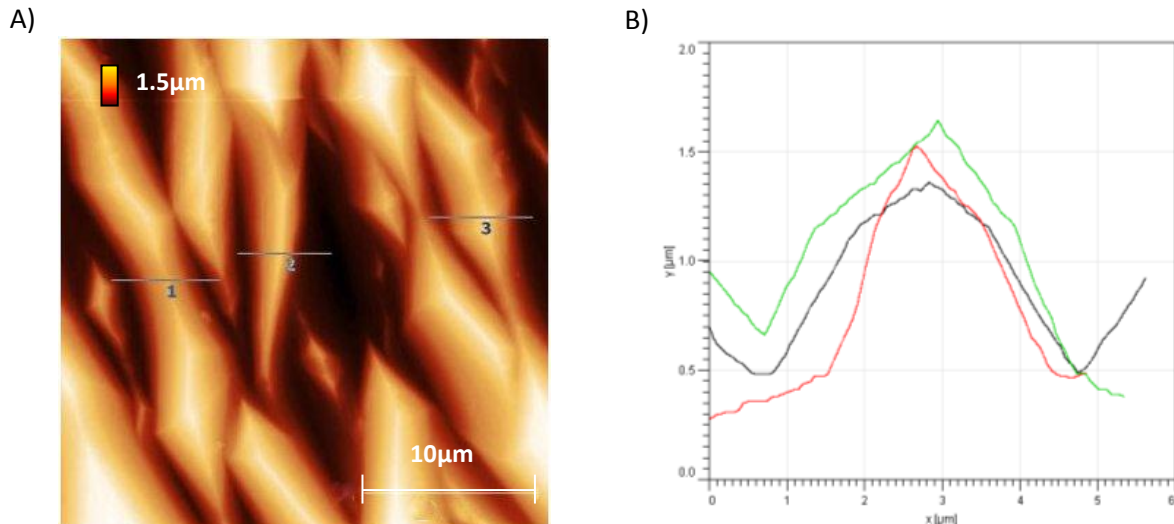


Figure 3.47 – Détermination de l'orientation des facettes révélées lors de la gravure du GaAs (100) grâce à des sections perpendiculaires aux motifs : A) position des sections réalisées dans l'image de 25 par 25 μm et B) profils des sections.

Conclusion

A travers ce chapitre, nous avons cité différentes méthodes de fabrication applicables au GaAs et étudié tout particulièrement l'usinage chimique. La grande diversité de ces procédés d'usinage permet d'envisager la réalisation de structures tridimensionnelles complexes qui le positionnent comme un candidat de choix pour la réalisation de MEMS. Il offre ainsi une alternative très intéressante à la réalisation de structures vibrantes à ondes acoustiques de volume généralement fabriquées en quartz.

Parmi les solutions de fabrication proposées, nous avons opté pour des techniques de fabrication permettant de réaliser de nombreux dispositifs à moindre frais. Ceci est possible du fait de la simplicité et de la reproductibilité à grande échelle du procédé de gravure humide. Cette étape de gravure est précédée de la réalisation des électrodes par lift off, classiquement utilisé pour ce type de dispositif. Pour permettre l'obtention d'une membrane suffisamment épaisse, les techniques utilisant des couches d'arrêts (couches sacrificielles obtenues par épitaxie ou implantation ionique) ont été écartées et la maîtrise des dimensions géométriques se fait donc uniquement grâce à la bonne connaissance et l'application rigoureuse du processus de fabrication. Une étude bibliographique a permis de mieux comprendre les phénomènes mis en jeu au cours de l'usinage et de choisir les solutions et conditions de gravure.

Deux étapes de fabrication ont été nécessaires. La gravure de la membrane est précédée d'un amincissement du substrat afin d'accroître la précision de l'usinage. Ces deux étapes, dont les qualités de surface recherchées et de structuration géométrique diffèrent, sont obtenues avec le même procédé mais en adaptant les solutions de gravure. Ainsi, la solution de gravure $7 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 5 \text{ H}_2\text{O}_2 : 8 \text{ H}_2\text{O}$ a été préférée pour l'amincissement alors que la solution $1 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 9 \text{ H}_2\text{O}_2 : 1 \text{ H}_2\text{O}$ est utilisée pour réaliser la géométrie particulière de la membrane. Pour ces deux étapes, une agitation importante par agitateur magnétique (500 tr.min^{-1}) et une température proche de 0°C doivent être appliquées pour garantir les bonnes conditions géométriques de l'usinage et garantir une planéité et

un aspect irréprochable à notre membrane. L'épaisseur de la membrane, dimension critique de notre dispositif, est contrôlée grâce à un témoin visuel.

La géométrie des prototypes a pu être validée grâce à une étude par microscopie optique. Les propriétés d'état de surface ont été vérifiées par microscopie électronique à balayage et la topographie mesurée par microscopie à force atomique en mode contact sous air. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence les différentes topographies de surface. Dans certaines conditions et pour des bains particuliers, une microstructuration spécifique a pu être observée. Le comportement de la solution 1 H_3PO_4 : 9 H_2O_2 : 1 H_2O a été tout particulièrement étudié et différentes structures ont pu être obtenues pour différents substrats et dans des conditions d'usinage différentes. Les conditions particulières de température et d'agitation, requises pour l'obtention d'une membrane suffisamment plane et sans défaut, n'ont cependant pas permis d'obtenir une structure spécifique avec ce bain de gravure. D'autres essais, notamment avec la solution 3 H_3PO_4 : 1 H_2O_2 : 6 H_2O , ont permis l'obtention d'une structuration particulière dans ces conditions tout en conservant des propriétés géométriques pour la membrane comparables.

Les étapes de fabrication validées, des optimisations restent cependant à prévoir comme par exemple l'utilisation de silice comme élément de masquage pour l'amincissement ou la réalisation de membrane. La réalisation de dispositifs sur des wafers de dimensions plus importantes ou pour la fabrication de réseau de capteurs nécessitera aussi l'adaptation des conditions d'agitation et de nouvelles solutions de maintien devront être trouvées pour conserver les bonnes caractéristiques et l'homogénéité de l'usinage.

D'autres solutions, et tout particulièrement l'utilisation de couches sacrificielles, sont envisagées afin de déterminer la sensibilité d'un dispositif possédant une membrane de faible épaisseur et une excellente planéité. Une étude collaborative avec l'IEMN est en cours pour la fabrication d'un tel dispositif réalisé par gravure sélective de couche GaAs / InPGaAs épitaxiées. Cette réalisation nécessitera une adaptation du dispositif afin que la différence de pression à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule fluide ne vienne pas détruire le dispositif, ce qui nous avait conduit à écarter d'ambler cette technique en première approximation.

Les solutions de gravure seront aussi adaptées et combinées pour la fabrication d'une biointerface optimale. Des études supplémentaires sont à mener afin de vérifier que la structuration de surface ne perturbe pas les ondes acoustiques et qu'elle présente un réel atout pour la détection d'interactions biologiques augmentant la sensibilité du système. Cependant, ces solutions ne sont intéressantes que si nous arrivons à réaliser un capteur suffisamment précis, avec une limite de détection suffisamment basse (quelques dizaines de nanogrammes), pour que nous puissions visualiser l'influence de ces facteurs sur la détection d'interactions biologiques.

Références

1. Hu, Y.; French, L. A.; Radecsky, K.; Pereira da Cunha, M.; Millard, P.; Vetelino, J. F., A lateral field excited liquid acoustic wave sensor *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control* **2004**, 51, (11), 1373-1380.
2. Maraldo, D.; Mutharasan, R., Mass-change sensitivity of high-order mode of piezoelectric-excited millimeter-sized cantilever (PEMC) sensors: Theory and experiments. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2010**, 143, (2), 731-739.
3. Martin, S. J.; Frye, G. C.; Wessendorf, K. O., Sensing liquid properties with thickness-shear mode resonators. *Sensors and Actuators A: Physical* **1994**, 44, (3), 209-218.
4. Nicu, L.; Guirardel, M.; Chambosse, F. d. r.; Rougerie, P.; Hinh, S.; Trevisiol, E.; Francois, J.-M.; Majoral, J.-P.; Caminade, A.-M.; Cattani, E.; Bergaud, C., Resonating piezoelectric membranes for microelectromechanically based bioassay: detection of streptavidin-gold nanoparticles interaction with biotinylated DNA. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2005**, 110, (1), 125-136.
5. Stehrer, B. P.; Gruber, H.; Schwödiauer, R.; Graz, I. M.; Bauer, S., High Frequency QCM Flow Cell with Enhanced Accuracy for Liquid and Biochemical Sensing. *Procedia Chemistry* **2009**, 1, (1), 1507-1510.
6. Zhang, J.; O'Shea, S., Tuning forks as micromechanical mass sensitive sensors for bio- or liquid detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2003**, 94, (1), 65-72.
7. Söderkvist, J., Micromachined gyroscopes. *Sensors and Actuators A: Physical* **1994**, 43, (1-3), 65-71.
8. Tellier, C. R.; Leblois, T. G., Micromachining of quartz plates: determination of a database by combined stereographic analysis and 3-D simulation of etching shapes *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control* **2000**, 47, 1204-1216.
9. Leblois, T. G.; Tellier, C. R., Some investigations on doubly-rotated quartz resonant temperature sensors. *Sensors and Actuators A: Physical* **2002**, 99, (3), 256-269.
10. Hjort, K., Gallium arsenide micromechanics : a comparison to silicon and quartz. Gallium Arsenide Applications Symposium. GAAS 1994, 28-30 April 1994, Turin, Italy, pp. 65.
11. Leclercq, J. L.; Ribas, R. P.; Karam, J. M.; Viktorovitch, P., III-V micromachined devices for microsystems. *Microelectronics Journal* **1998**, 29, (9), 613-619.
12. Brozel, M. R.; Stillman, G. E., *Properties of gallium arsenide, third edition*. IEE: 1996.
13. Baca, A. G.; Ashby, C. I. H., *Fabrication of GaAs devices*. IET: London, 2005.
14. Chang, E. Y.; Lai, Y.-L.; Lee, Y. S.; Chen, S. H., A GaAs/AlAs Wet Selective Etch Process for the Gate Recess of GaAs Power Metal-Semiconductor Field-Effect Transistors. *Journal of The Electrochemical Society* **2001**, 148, (1), G4-G9.
15. Dehé, A.; Fricke, K.; Hartnagel, H. L., Infrared thermopile sensor based on AlGaAs/GaAs micromachining. *Sensors and Actuators A: Physical* **1995**, 47, (1-3), 432-436.
16. Hjort, K.; Schweitz, A.-A.; Hok, B., Bulk and surface micromachining of GaAs structures. Proceedings IEEE Micro Electro Mechanical Systems, 1990. An Investigation of Micro Structures, Sensors, Actuators, Machines and Robots. pp. 73-76
17. Juang, C.; Kuhn, K. J.; Darling, R. B., Selective etching of GaAs and Al_{0.3}Ga_{0.7}As with citric acid/hydrogen peroxide solutions. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures* **1990**, 8, (5), 1122-1124.
18. Kicin, S.; Novak, J.; Kucera, M.; Hasenohrl, S.; Elias, P.; Vavra, I.; Hudek, P., Preparation of stair-step grooves by wet etching of AlAs/GaAs heterostructures and MOCVD growth of QWR. *Materials Science and Engineering: B* **1999**, 65, (2), 106-110.
19. Hjort, K., Sacrificial etching of III-V compounds for micromechanical devices. *J. Micromech. Microeng.* **1996**, 6, 370-375.
20. Hong, J.; Pearton, S. J.; Hobson, W. S.; Han, H., Selective and non-selective wet chemical etching of GaAs_{0.93}P_{0.07}. *Solid-State Electronics* **1996**, 39, (11), 1675-1677.
21. Vail, E. C.; Wu, M. S.; Li, G. S.; Eng, L.; Chang-Hasnain, C. J., GaAs micromachined widely tunable Fabry-Perot filters *Electronics letters* **1995**, 31, (3), 228-229.

22. Hjort, K.; Schweitz, J.-A.; Andersson, S.; Kordina, O.; Janzen, E. In *Epitaxial regrowth in surface micromachining of GaAs* Micro Electro Mechanical Systems 1992, 1992; IEEE: 1992; pp 83-86.
23. Wu, X. S. C., L.A.; MERZ, J.L., Selective etching characteristics of HF for Al_xGa_{1-x}As/GaAs. *Electronics Letters* **1985**, 21, (13), 558-559.
24. Miao, J.; Hartnagel, H. L., High-energy ion implantation: an alternative technology for micromachining three-dimensional GaAs structures. *Sensors and Actuators A: Physical* **2004**, 114, (2-3), 505-509.
25. Miao, J.; Hartnagel, H. L.; Weiss, B. L., Deep nitrogen implantation for GaAs microstructuring using pulsed electrochemical etching. *Journal of Applied Physics* **2002**, 92, (5), 2923-2928.
26. Miao, J.; Tiginyanu, I. M.; Hartnagel, H. L.; Irmer, G.; Monecke, J.; Weiss, B. L., The characteristics of high-resistance layers produced in n-GaAs using MeV-nitrogen implantation for three-dimensional structuring. *Applied Physics Letters* **1997**, 70, (7), 847-849.
27. Miao, J.; Weiss, B. L.; Hartnagel, H. L., Micromachining of three-dimensionnal GaAs membrane structures using high-energy nitrogen implantation. *J. Micromech. Microeng.* **2003**, 13, 35-39.
28. Miao, J.; Hartnagel, H. L.; Rück, D.; Fricke, K., The use of ion implantation for micromachining GaAs for sensor applications. *Sensors and Actuators A: Physical* **1995**, 46, (1-3), 30-34.
29. Fricke, K.; Wurfl, J.; Miao, J.; Dehe, A.; Rucks, D.; Hartnagel, H. L., Fabrication of microstructures for integrated sensors on GaAs. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1993**, 3, (3), 131.
30. Uenishi, Y. T., H.; Ukita, H., Characterization of AlGaAs microstructure fabricated by AlGaAs/GaAs micromachining. *IEEE Transactions on Electron Devices* **1994**, 41, 1778-1783.
31. Ribas, R. P.; Leclercq, J. L.; Karam, J. M.; Courtois, B.; Viktorovitch, P., Bulk micromachining characterization of 0.2 µm HEMT MMIC technology for GaAs MEMS design. *Materials Science and Engineering: B* **1998**, 51, (1-3), 267-273.
32. Fobelets, K.; Vounckx, R.; Borghs, G., A GaAs pressure sensor based on resonant tunnelling diodes. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1994**, 4, (3), 123.
33. Hascik, S.; Hotovy, I.; Lalinsky, T.; Vanko, G.; Rehacek, V.; Mozolova, Z., Preparation of thin GaAs suspended membranes for gas micro-sensors using plasma etching. *Vacuum* **2007**, 82, (2), 236-239.
34. Bin, X.; Sargent, E. H.; Kelley, S. O., Nanostructuring of Sensors Determines the Efficiency of Biomolecular Capture. *Analytical Chemistry* **2010**, 82, (14), 5928-5931.
35. Bonroy, K.; Friedt, J.-M.; Frederix, F.; Laureyn, W.; Langerock, S.; Campitelli, A.; Sara, M.; Borghs, G.; Goddeeris, B.; Declerck, P., Realization and Characterization of Porous Gold for Increased Protein Coverage on Acoustic Sensors. *Analytical Chemistry* **2004**, 76, (15), 4299-4306.
36. Castellano, R. N.; Meeker, T. R.; Sundahl, R. C.; Jacobs, J. C. In 31st AFCS, 1977; 1977; p 126.
37. Jones, K. H. In 41st Annual Frequency control Symposium, 1987; 1987; p 199.
38. Leblois, T. G.; Tellier, C. R.; Bourquin, R., The quality factor of deeply etched quartz resonators : theory and experiments. *Rev. Phys. Appl.* **1989**, 24, (9), 877-892.
39. DeSalvo, G. C.; Bozada, C. A.; Ebel, J. L.; Look, D. C.; Barrette, J. P.; Cerny, C. L. A.; Dettmer, R. W.; Gillespie, J. K.; Havasy, C. K.; Jenkins, T. J.; Nakano, K.; Pettiford, C. I.; Quach, T. K.; Sewell, J. S.; Via, G. D., Wet Chemical Digital Etching of GaAs at Room Temperature. *Journal of The Electrochemical Society* **1996**, 143, (11), 3652-3656.
40. Tuck, B., The chemical polishing of semiconductors. *Journal of Materials Science* **1975**, 10, (2), 321-339.
41. Barycka, I.; Zubel, I., Chemical etching of (100) GaAs in a sulphuric acid-hydrogen peroxide-water system. *Journal of Materials Science* **1987**, 22, (4), 1299-1304.
42. Iida, S.; Ito, K., Selective Etching of Gallium Arsenide Crystals in H₂SO₄-H₂O₂-H₂O System. *Journal of The Electrochemical Society* **1971**, 118, (5), 768-771.
43. Kadhim, N. J.; Laurie, S. H.; Mukherjee, D., Chemical Etching of Group III - V Semiconductors. *Journal of Chemical Education* **1998**, 75, (7), 840.

44. Kulkarni, M. S.; Erk, H. F., Acid-Based Etching of Silicon Wafers: Mass-Transfer and Kinetic Effects. *Journal of The Electrochemical Society* **2000**, 147, (1), 176-188.
45. MacFadyen, D. N., On the Preferential Etching of GaAs by $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2\text{-H}_2\text{O}$. *Journal of The Electrochemical Society* **1983**, 130, (9), 1934-1941.
46. Mori, Y.; Watanabe, N., A New Etching Solution System, $\text{H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}_2\text{-H}_2\text{O}$, for GaAs and Its Kinetics. *Journal of The Electrochemical Society* **1978**, 125, (9), 1510-1514.
47. Salzenstein, P. Procédés technologiques élémentaires. http://www.femto-st.fr/~salzenst/CHAPITR1_hm.htm
48. Kuiken, H. K.; Kelly, J. J.; Notten, P. H. L., Etching Profiles at Resist Edges. *Journal of The Electrochemical Society* **1986**, 133, (6), 1217-1226.
49. Rath, P.; Chai, J. C.; Zheng, H.; Lam, Y. C.; Murukeshan, V. M., Modeling two-dimensional diffusion-controlled wet chemical etching using a total concentration approach. *International Journal of Heat and Mass Transfer* **2006**, 49, (7-8), 1480-1488.
50. Rath, P.; Chai, J. C.; Zheng, H.; Lam, Y. C.; Murukeshan, V. M.; Zhu, H., A fixed-grid approach for diffusion- and reaction-controlled wet chemical etching. *International Journal of Heat and Mass Transfer* **2005**, 48, (11), 2140-2149.
51. Notten, P. H. L.; Kelly, J. J.; Kuiken, H. K., Etching Profiles at Resist Edges. *Journal of The Electrochemical Society* **1986**, 133, (6), 1226-1232.
52. Adachi, S.; Kawaguchi, H.; Iwane, G., A new etchant system, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7\text{-H}_2\text{SO}_4\text{-HCl}$, for GaAs and InP. *Journal of Materials Science* **1981**, 16, (9), 2449-2456.
53. Wilson, S.; Armstrong, R.; Dagenais, M.; Beard, W. T.; Wood, C., {7 6 6} Oriented V-groove surfaces on $\text{Br}_2\text{-CH}_3\text{OH}$ etched (1 0 0) GaAs wafers. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* **1997**, 8, (2), 109-113.
54. Liu, h.-C., Effect of H_2O_2 on III-V semiconductor etched by sulfuric acids. **2007**, 250.
55. Rabah, H.; Alain, S.; Claude, A., Study of GaAs chemical etching in a mixture of hydrogen peroxide/succinic acid and ammonia. Thiourea effect on the surface roughness and on the presence of surface states after etching. *Applied Surface Science* **2001**, 171, (1-2), 34-43.
56. Takebe, T.; Yamamoto, T.; Fujii, M.; Kobayashi, K., Fundamental Selective Etching Characteristics of $\text{HF} + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$ Mixtures for GaAs. *Journal of The Electrochemical Society* **1993**, 140, (4), 1169-1180.
57. Block, K.; Bleier, M.; Köthe, O.; Landesberger, C., New manufacturing concepts for ultra-thin silicon and gallium arsenide substrates. **2003**.
58. Kang, M.-G.; Sa, S.-H.; Park, H.-H.; Suh, K.-S.; Kyung-Hui, O., The characterization of etched GaAs surface with HCl or H_3PO_4 solutions. *Thin Solid Films* **1997**, 308-309, (0), 634-642.
59. Otsubo, M.; Oda, T.; Kumabe, H.; Miiki, K., Preferential etching of GaAs through photoresist masks. *Journal of electrochemical society* **1976**, 123, 676-680.
60. Kelly, J. J.; Reynders, A. C., A study of GaAs etching in alkaline H_2O_2 solutions. *Applied Surface Science* **1987**, 29, (2), 149-164.
61. Jones, S. H.; Walker, D. K., Highly Anisotropic Wet Chemical Etching of GaAs Using $\text{NH}_4\text{OH:H}_2\text{O}_2\text{:H}_2\text{O}$. *Journal of The Electrochemical Society* **1990**, 137, (5), 1653-1654.
62. Adachi, S.; Oe, K., Chemical Etching Characteristics of (001)GaAs. *Journal of The Electrochemical Society* **1983**, 130, (12), 2427-2435.
63. Shaw, D. W., Localized GaAs Etching with Acidic Hydrogen Peroxide Solutions. *Journal of The Electrochemical Society* **1981**, 128, (4), 874-880.
64. Rei Vilar, M.; El Beghdadi, J.; Debontridder, F.; Artzi, R.; Naaman, R.; Ferrara, A. M.; Botelho do Rego, A. M., Characterization of wet-etched GaAs (100) surfaces. *Surface and Interface Analysis* **2005**, 37, (8), 673-682.
65. Adachi, S.; Kikuchi, D., Chemical Etching Characteristics of GaAs(100) Surfaces in Aqueous HF Solutions. *Journal of The Electrochemical Society* **2000**, 147, (12), 4618-4624.
66. Flemish, J. R.; Jones, K. A., Selective Wet Etching of GaInP , GaAs, and InP in Solutions of HCl , CH_3COOH , and H_2O_2 . *Journal of The Electrochemical Society* **1993**, 140, (3), 844-847.

67. Ghidaoui, D.; Lyon, S. B.; Thompson, G. E.; Walton, J., Oxide formation during etching of gallium arsenide. *Corrosion Science* **2002**, 44, (3), 501-509.
68. Bekezina, T.; Mokrousov, G., Preparation of GaAs surfaces of desired composition. *Inorganic Materials* **2000**, 36, (9), 857-863.
69. Liu, H. C.; Tsai, S. H.; Hsu, J. W.; Shih, H. C., The phase identification of the H₂SO₄-etched GaAs by X-ray diffraction. *Materials Chemistry and Physics* **1999**, 61, (2), 117-123.
70. Yoon, H. J.; Choi, M. H.; Park, I. S., The Study of Native Oxide on Chemically Etched GaAs (100) Surfaces. *Journal of The Electrochemical Society* **1992**, 139, (11), 3229-3234.
71. Bryce, C.; Berk, D., Kinetics of GaAs Dissolution in H₂O₂-NH₄OH-H₂O Solutions. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **1996**, 35, (12), 4464-4470.
72. Gannon, J. J.; Nuese, C. J., A Chemical Etchant for the Selective Removal of GaAs Through SiO₂ Masks. *Journal of The Electrochemical Society* **1974**, 121, (9), 1215-1219.
73. Tellier, C. R.; Huve, G.; Leblois, T. G., Micromachining of GaAs structures with an acidic hydrogen peroxide solution: Experimental and theoretical 3D etching shapes. *Sensors and Actuators A: Physical* **2006**, 127, (1), 179-193.
74. Tellier, C. R.; Leblois, T. G., On the design of GaAs (hhl) resonant cantilevers: Study of piezoelectric excitation, of piezoresistive sensing and of micromachined structure. *Sensors and Actuators A: Physical* **2006**, 132, (1), 224-235.
75. Huve, G. Sur la conception de microrésonateurs en arséniure de gallium : excitation piézoélectrique et micro-usinage chimique. Université de franche comté, Besançon, 2005.
76. Chen, J.; Liu, L.; Li, Z.; Tan, Z.; Jiang, Q.; Fang, H.; Xu, Y.; Liu, Y., Study of anisotropic etching of (1 0 0) Si with ultrasonic agitation. *Sensors and Actuators A: Physical* **2002**, 96, (2-3), 152-156.
77. Tellier, C. R.; Huve, G.; Leblois, T. G., Anisotropic chemical etching og III-V crystals dissolution slowness surface and application to GaAs. *Active and Passive Electronic Components* **2004**, 27, 133-154.
78. Poon, C. Y.; Bhushan, B., Comparison of surface roughness measurements by stylus profiler, AFM and non-contact optical profiler. *Wear* **1995**, 190, (1), 76-88.
79. Bin, X.; Sargent, E. H.; Kelley, S. O., Nanostructuring of sensors determines the efficiency of biomolecular capture. *Analytical chemistry* **2010**, 82, (14), 5928-5931.
80. DeJarld, M.; Shin, J. C.; Chern, W.; Chanda, D.; Balasundaram, K.; Rogers, J. A.; Li, X., Formation of High Aspect Ratio GaAs Nanostructures with Metal-Assisted Chemical Etching. *Nano Letters* **2011**, 11, (12), 5259-5263.
81. Naddaf, M.; Saloum, S., Nanostructuring-induced modification of optical properties of p-GaAs (100). *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures* **2009**, 41, (10), 1784-1788.
82. Ikeda, N.; Sugimoto, Y.; Watanabe, Y.; Ozaki, N.; Takata, Y.; Tanaka, Y.; Inoue, K.; Asakawa, K., Precise control of dry etching for nanometer scale air-hole arrays in two-dimensional GaAs/AlGaAs photonic crystal slabs. *Optics Communications* **2007**, 275, (1), 257-267.
83. Desplats, O. Préparation de surfaces structurées et reprise d'épitaxie par jets moléculaire - Réalisation du micro et nano structures sur GaAs. Université de toulouse, Toulouse, 2008.
84. Wang, Y.; Joyce, H. J.; Gao, Q.; Liao, X.; Tan, H. H.; Zou, J.; Ringer, S. P.; Shan, Z.; Jagadish, C., Self-Healing of Fractured GaAs Nanowires. *Nano Letters* **2012**, 11, (4), 1546-1549.
85. Cahangirov, S.; Ciraci, S., First-principles study of GaAs nanowires. *Physical Review B* **2009**, 79, (16), 165118.
86. Tellier, C. R.; Leblois, T. G.; Charbonnieras, A., Chemical etching of {hk0} silicon plates in EDP Part I: Experiments and comparison with TMAH. *Active and Passive Electronic Components* **2000**, 23, (1), 37.
87. Banuelos, J.-G.; Basiuk, E. V.; Saniger-Bleda, J.-M., Morphology of patterned semiconductor III-V surfaces prepared by spontaneous anisotropic chemical etching. *revista mexicana de Fisica* **2003**, 49, (4), 310-316.
88. Kelly, J. J.; Philipsen, H. G. G., Anisotropy in the wet-etching of semiconductors. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* **2005**, 9, (1-2), 84-90.

89. Kang, M.-G.; Park, H.-H., Surface preparation and effective contact formation for GaAs surface. *Vacuum* **2002**, 67, (1), 91-100.
90. Landis, G. A.; Fatemi, N. S.; Young, M. J.; Bailey, S. G., Maskless Texture Etching of GaAs. *Journal of The Electrochemical Society* **1993**, 140, (12), L183-L184.
91. Lange, D. A.; Jennings, H. M.; Shah, S. P., Analysis of surface roughness using confocal microscopy. *Journal of Materials Science* **1993**, 28, (14), 3879-3884.
92. Lebedev, M. V.; Ensling, D.; Hunger, R.; Mayer, T.; Jaegermann, W., Synchrotron photoemission spectroscopy study of ammonium hydroxide etching to prepare well-ordered GaAs(100) surfaces. *Applied Surface Science* **2004**, 229, (1-4), 226-232.
93. Dubowski, J. J.; Voznyy, O.; Marshall, G. M., Molecular self-assembly and passivation of GaAs (0 0 1) with alkanethiol monolayers: A view towards bio-functionalization. *Applied Surface Science* **2010**, 256, (19), 5714-5721.
94. Raphet, B., Etats de surface, caractérisation. In *Techniques de l'ingénieur*, Vol. 1230.

4 Développements de l'interface de biorecognition

Introduction

Les propriétés particulières du matériau massif d'arséniure de gallium exploitées pour la conception du transducteur et sa fabrication ont démontré les qualités de ce matériau pour la réalisation d'une structure d'activation et de détection très sensible. Nous l'avons vu dans l'état de l'art, la deuxième caractéristique d'un biocapteur est sa sélectivité de détection. Cette sélectivité permet de s'assurer que le signal provient bien d'une interaction spécifique et non de l'effet de stimuli extérieurs ou d'une interaction non souhaitée. Les effets de stimuli extérieurs sont facilement quantifiables en mesurant la réponse du capteur dans diverses conditions environnementales. Par étalonnage, les erreurs de mesure introduites par ces effets peuvent être fortement réduites en appliquant des corrections sur les mesures réalisées et/ou par mesures différentielles. Les interactions non souhaitées entre une molécule présente dans le milieu biologique (hormis l'analyte) et la surface sensible du capteur sont plus difficilement identifiables et viennent perturber la mesure. Du fait de la diversité et du nombre important de molécules pouvant interagir avec la surface, la quantification de ces phénomènes est plus complexe. Il est donc nécessaire de concevoir une interface capable de sélectionner très finement une réaction et d'empêcher ou en tout cas de limiter toute interaction non-spécifique avec la surface.

Les biocapteurs d'affinités, comme celui que nous souhaitons réaliser, capturent par exemple des antigènes présents en solution par l'intermédiaire d'anticorps greffés sur la surface du capteur (ou inversement). Ces interactions anticorps / antigènes sont connues comme étant une réaction très sélective d'où leur analogie à un système clé / serrure [1]. Elles sont de plus quasiment irréversibles. Les interactions non désirées entre le capteur et le milieu biologique proviennent alors dans la plupart des cas d'interactions faibles non maîtrisées avec la surface ou un fragment de l'anticorps. Pour les réduire, il est nécessaire de maîtriser la densité de biorécepteurs présents à la surface, ainsi que leur orientation, afin qu'un maximum de sites de reconnaissance soit visible par la solution, gage de sélectivité. Un nettoyage drastique de la surface après chaque interaction est aussi nécessaire afin de limiter les interactions faibles pouvant se créer entre les molécules du milieu biologique complexe et la surface.

Des stratégies très diverses peuvent être appliquées à la surface d'arséniure de gallium afin de réaliser une biointerface très sélective. La physisorption simple de biorécepteurs est limitée à cause des interactions faibles qui s'établissent entre les biorécepteurs et la surface et qui ne permettent pas d'assurer une stabilité et une reproductibilité suffisante de la couche. D'autres voies de développement comme la reconnaissance spécifique entre des plans cristallins particuliers et des séquences d'acides aminés bien définies [2-7] ou encore l'utilisation de protéines génétiquement modifiées [8, 9] peuvent s'appliquer pour la réalisation de couche protéique recouvrant la surface du matériau. Cependant, lorsque les biorécepteurs sont en contact direct avec le substrat, une dénaturation de ces derniers est possible, affectant plus ou moins sévèrement leurs capacités de biodétection spécifique de leur partenaire [10]. De plus, ces deux techniques sont limitées à quelques molécules et la modification de protéines par génie génétique reste une opération coûteuse. Le greffage covalent de biomolécules (ligands) sur le substrat par l'intermédiaire d'une interface chimique spécifique est une solution très développée. Les monocouches auto-assemblées

(SAM) [11, 12] sont des stratégies de choix car elles permettent de fournir une grande densité de sites d'accroche pour la fixation covalente des biorécepteurs sur la surface et limitent les interactions non-spécifiques avec le substrat en formant une barrière physique. Par voie humide, cette méthode peu coûteuse est simple, rapide, facile à mettre en place et permet la fixation de pratiquement n'importe quelle protéine sur une surface. Les dimensions des protéines étant importantes comparativement aux sous-unités cristallines du substrat, une couche intermédiaire composée de molécules de petite dimension est intéressante pour passiver le substrat. Cette couche permet aussi d'accroître la stabilité et la reproductibilité de la surface ainsi que de la rendre biocompatible [9, 13-16], ce qui n'est pas le cas des éléments Ga et As qui sont biotoxiques [17-19].

4.1 Conception d'une biointerface

4.1.1 Interface transducteur / biorécepteurs : les monocouches auto-assemblées (SAM)

Les monocouches auto-assemblées sont des interfaces organiques permettant de modifier les propriétés électrochimiques de la surface afin de lui conférer une nouvelle fonctionnalité. La constitution de ces SAMs est généralement adaptée à l'application visée en conférant à la surface les propriétés recherchées [20]. Les molécules constitutives de ces SAMs sont toujours constituées d'un groupement d'accroche au substrat, un espaceur et d'un groupement fonctionnel terminal.

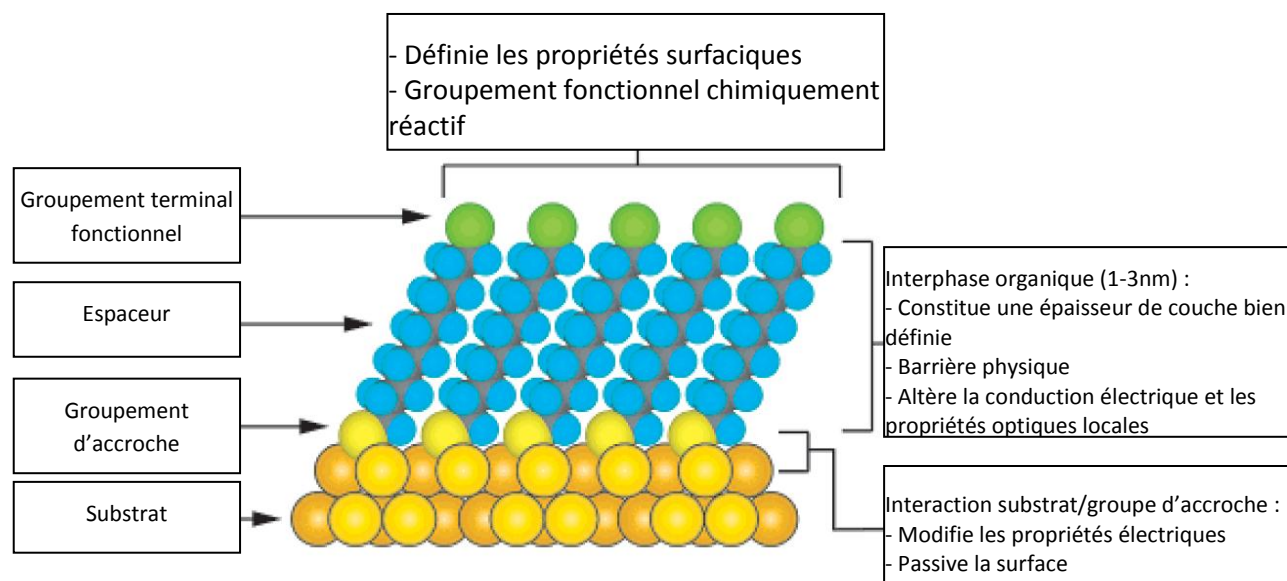


Figure 4.1 - Schéma représentatif de l'organisation des thiols sur la surface de GaAs [21]

Le groupement d'accroche peut être chimisorbé sur la surface afin d'assurer une liaison forte entre le substrat et la SAM. Réagissant avec le substrat, il modifie les propriétés électriques et/ou électroniques du substrat et tend à passiver la surface. Sans avoir nécessairement recours à une couche supplémentaire déposée de nitrure de silicium (Si_3N_4) [22, 23] ou de silice (SiO_2) [23], la surface d'arséniure de gallium est directement fonctionnalisable par de nombreuses chimies. La nature de ces groupements d'accroche peut être diverse du fait de la présence ou non d'oxyde se formant spontanément en présence d'oxygène. Les groupements thiol ($-\text{SH}$) et alkoxysilane ($-\text{Si}(\text{OR})_3$) sont les deux modèles les plus répandus respectivement utilisés pour les surfaces métalliques et les surfaces

oxydées (SiO_2 / TiO_2) mais d'autres groupements peuvent aussi être utilisés tels que les groupements carboxyles ($-\text{COOH}$) ou les acides phosphoniques ($-\text{PO}(\text{OH})_2$). L'utilisation préférentielle d'un groupement d'accroche se fera en fonction de propriétés électriques et chimiques désirées ainsi que de la stabilité de la couche.

L'espaceur va conditionner l'épaisseur de la couche et ordonnancer son organisation. Il constitue une barrière physique qui limite les interactions du milieu extérieur avec le substrat. L'espaceur peut être constitué de chaînes de différentes longueurs et de différentes natures : chaînes alkyles, polyéthylène glycol (PEG), biphényle... L'utilisation de molécules à différentes longueurs de chaînes dans une même couche est aussi possible et va permettre de conférer des spécificités particulières comme par exemple la mise en valeur de sites d'accroche pour les molécules biologiques. Ces chaînes altèrent aussi les propriétés électriques et optiques locales de la surface. Des techniques de structuration de ces couches peuvent être utilisées pour la réalisation d'hétérostructures.

Le groupement terminal de la chaîne utilisée va conditionner les nouvelles propriétés surfaciques. Ces groupements terminaux sont très variés, les plus répandus étant les groupements alkyle ($-\text{CH}_3$), carboxyle ($-\text{COOH}$), hydroxyle ($-\text{OH}$), amine ($-\text{NH}_2$), thiol ($-\text{SH}$). Chimiquement réactifs (hormis le groupement alkyle), ces groupements fonctionnels vont réagir directement avec la molécule désirée. Il est par ailleurs possible de combiner plusieurs groupements fonctionnels terminaux en surface afin de cumuler deux propriétés compatibles.

4.1.2 Fonctionnalisation de la surface d'arséniure de gallium pour une application biocapteur

Les SAMs les plus utilisées pour l'arséniure de gallium sont certainement les alkanethiols ^[24-26]. Ces SAMs sont très étudiées pour la passivation de la surface d'arséniure de gallium ^[27, 28]. Elles présentent notamment l'avantage de s'organiser facilement en monocouche, ce qui n'est par exemple pas forcément le cas pour les silanes. Lunt et al. ^[27] et Nakagawa et al. ^[29] ont été les deux précurseurs dans ce domaine mais leurs travaux ont été largement complétés afin de conférer de nouvelles fonctionnalités en modifiant les propriétés électriques et chimiques de la surface ^[30-32]. Parmi elles, les monocouches d'octadecanethiol (ODT), de formule brute $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}\text{SH}$, sont les plus étudiées ^[30] mais de nombreuses molécules peuvent être chimisorbées sur l'arséniure de gallium via leur groupement fonctionnel thiol ($-\text{SH}$), notamment pour des applications biocapteurs ^[31, 33, 34]. D'autres groupements fonctionnels proposent des solutions intéressantes. Parmi eux, les acides carboxyliques forment des liaisons avec la surface plus fortes que celles établies entre un groupement thiol et le-GaAs ^[35-37] et sont utilisables sur la surface native mais aussi sur surface oxydée ^[38]. Les liaisons GaAs avec les acides phosphoniques ($-\text{PO}(\text{OH})_2$), utilisés par Artzi et al. ^[39], sont annoncées comme encore plus fortes mais cette technique reste marginale.

Les chaînes séparatrices utilisables sont très variables tant au niveau de leurs longueurs que de leurs natures. Les chaînes alkyles sont les plus répandues ^[24, 26] mais de nombreuses variantes peuvent les remplacer avantageusement. Dubowski et al. ^[22, 40] montrent que les chaînes polyéthylènes glycol (PEG) sont particulièrement adaptées pour la diminution des associations non-spécifiques entre un

anticorps et certaines molécules. Adelkofer et al. [13] utilisent quant à eux le squelette aromatique plus rigide et volumineux d'un biphényle pour passiver la surface. Afin de limiter les problèmes d'encombrement stérique, des chaînes de longueurs variables sont souvent associées afin de faciliter l'accès à un groupement fonctionnel [32, 41-43].

Plusieurs groupements fonctionnels sont souvent associés dans une même couche auto-assemblée afin d'obtenir une couche mixte, présentant à la fois des zones d'accroche de biomolécules et des zones inertes, permettant de réduire les interactions non-spécifiques substrat / biomolécules. Une maîtrise du nombre de sites d'accroche et de leur répartition sur la surface est alors possible, favorisant ainsi le greffage d'une couche protéique homogène. Le groupement fonctionnel de passivation le plus répandu est le groupement hydroxyle (-OH), notamment utilisé pour son caractère hydrophile. Suivant le type d'interaction désiré, nous retrouverons des groupements d'accroche très différents. Par exemple, pour la réalisation d'interactions de physisorption, des groupements alkyles (-CH₃) sont préférentiellement choisis afin de permettre des adsorptions par interactions hydrophobes [21].

Pour la fixation covalente, de nombreux groupements fonctionnels peuvent être adaptés en fonction du mode de fixation de la protéine choisie. Nous retrouvons les groupements amine (-NH₂), carboxyle (-COOH) ou thiol (-SH). Enfin, pour une fixation par bio affinité, des monocouches biotinylées sont souvent adaptées du fait de la forte affinité de la biotine et de l'avidine. Le paragraphe suivant énumère ces méthodes de fixation.

4.1.3 Chimisorption et auto-assemblage de molécules thiolées à la surface de l'arséniure de gallium : formation d'une monocouche auto-assemblée.

La fonctionnalisation de la surface d'arséniure de gallium se fait par auto-assemblage de monocouches d'alkanethiol. Cette formation spontanée de structures hiérarchiques complexes se produit à l'interface solide/liquide grâce à la compétition entre la chimisorption du groupement thiol sur la surface, créant une fixation covalente, mais aussi grâce aux interactions inter-moléculaires des chaînes alkyles entre elles qui permettent l'auto-organisation sur la surface.

Chimisorption des molécules à la surface de GaAs

La chimisorption sur la surface de GaAs se fait par échange d'électrons entre le groupement thiol des molécules constitutives de la SAM et le substrat. Des études théoriques ont été menées sur différentes surfaces ((100) As-rich et Ga-rich [44-47] ou (110) [48]) et ont montré l'accroche préférentielle du thiol sur l'atome de gallium, contrairement à ce qui avait été prédit lors de précédentes études [24]. L'adsorption du thiol sur le gallium est rendue possible grâce à un déséquilibre électronique qui se crée à la surface du matériau entre l'atome de gallium et l'atome d'arsenic (Figure 4.2 a). Ce déséquilibre permet au thiol de se fixer sur l'atome de gallium en échangeant un électron avec celui-ci pour créer une liaison faible et de casser la liaison S-H du thiol (Figure 4.2 b). L'adsorption d'un atome d'hydrogène sur l'atome d'arsenic permet de rétablir l'équilibre électronique (Figure 4.2 c). La surface a donc adsorbé les deux espèces, le thioether et

l'atome d'hydrogène, qui sont dès lors respectivement liées de façon covalente aux atomes de gallium et d'arsenic. La Figure 4.2 montre le processus d'échange électronique entre les divers atomes pour permettre la chimisorption du thiol à la surface.

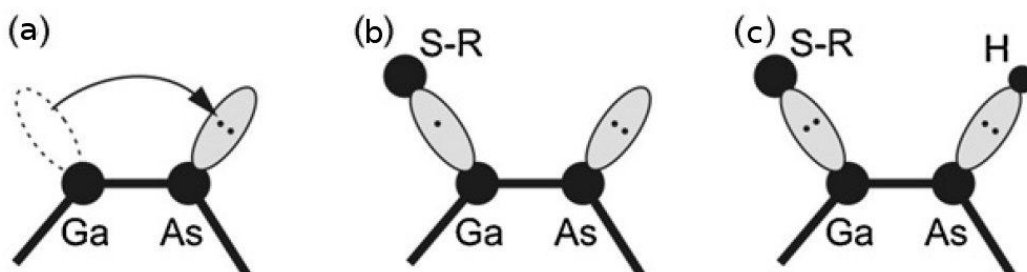


Figure 4.2 - Représentation schématique du rôle des électrons dans la chimisorption de thiol ^[24] : a) l'équilibre électronique est brisé, un radical libre du gallium migre vers l'atome d'arsenic du fait qu'il est plus électronégatif, b) le thiol met alors en commun un de ses électrons avec l'atome de gallium, créant une liaison faible, c) l'adsorption d'un atome d'hydrogène sur l'atome d'arsenic permet de rétablir l'équilibre électronique. Les deux espèces, le thiol et l'atome d'hydrogène, sont alors liées respectivement aux atomes de gallium et d'arsenic à la surface du matériau.

D'après ce principe, la chimisorption est possible uniquement après cassure de la liaison entre l'atome de soufre et l'hydrogène. Cependant, l'énergie nécessaire pour casser cette liaison est initialement de 3.75eV ce qui rend la chimisorption de la molécule impossible. La physisorption préalable de la molécule sur la surface abaisse ce seuil d'énergie à 0.5eV, du fait de la proximité des atomes de soufre et d'hydrogène avec les atomes de GaAs. L'énergie apportée par la vibration thermique est alors suffisante pour que la réaction de chimisorption puisse avoir lieu. L'énergie nécessaire à la réaction entre le substrat inorganique et la molécule organique est possible en étudiant les niveaux d'énergie du substrat et les orbitales moléculaires frontières de la molécule. Ainsi, pour qu'une liaison iono-covalente puisse se créer entre le substrat organique et la molécule inorganique, il faut qu'il y ait une interaction à deux électrons stabilisantes entre l'HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) de la molécule et la bande de conduction du substrat ou entre la LUMO (Lowest Unoccupied Molecular orbital) et la bande de valence. Cette réaction induit par la suite une modification des propriétés électriques et chimiques de la surface. Ces modifications électrochimiques sont par ailleurs utilisées dans certains capteurs chimiques ou biologiques. Sur arséniure de gallium, Lee et al. ^[49] utilisent les modifications électriques et chimiques de la surface pour quantifier la chimisorption de la protéine TAT fixée sur des thiols ainsi que ses interactions avec sa molécule cible TAR RNA. Ils mesurent pour cela les caractéristiques courant / tension d'un transistor à effet champ à jonction.

Auto-assemblage et organisation de la couche

Fixées par leur groupement thiol sur la surface, les molécules subissent des interactions d'attraction ou de répulsion vis-à-vis de la surface mais aussi des interactions inter-moléculaires. Ces interactions inter-moléculaires vont permettre aux molécules de s'organiser sur la surface afin d'obtenir une

structure monocouche bien ordonnée. L'organisation de la couche thiolée va dépendre fortement du plan cristallin mais aussi de la longueur de chaîne utilisée ou encore du temps d'incubation dans la solution de fonctionnalisation. La monocouche obtenue est alors caractérisée par une structure particulière hexagonale ou pseudo-hexagonale [30, 50] ainsi que par une orientation (tilt) et une rotation (twist) moléculaire.

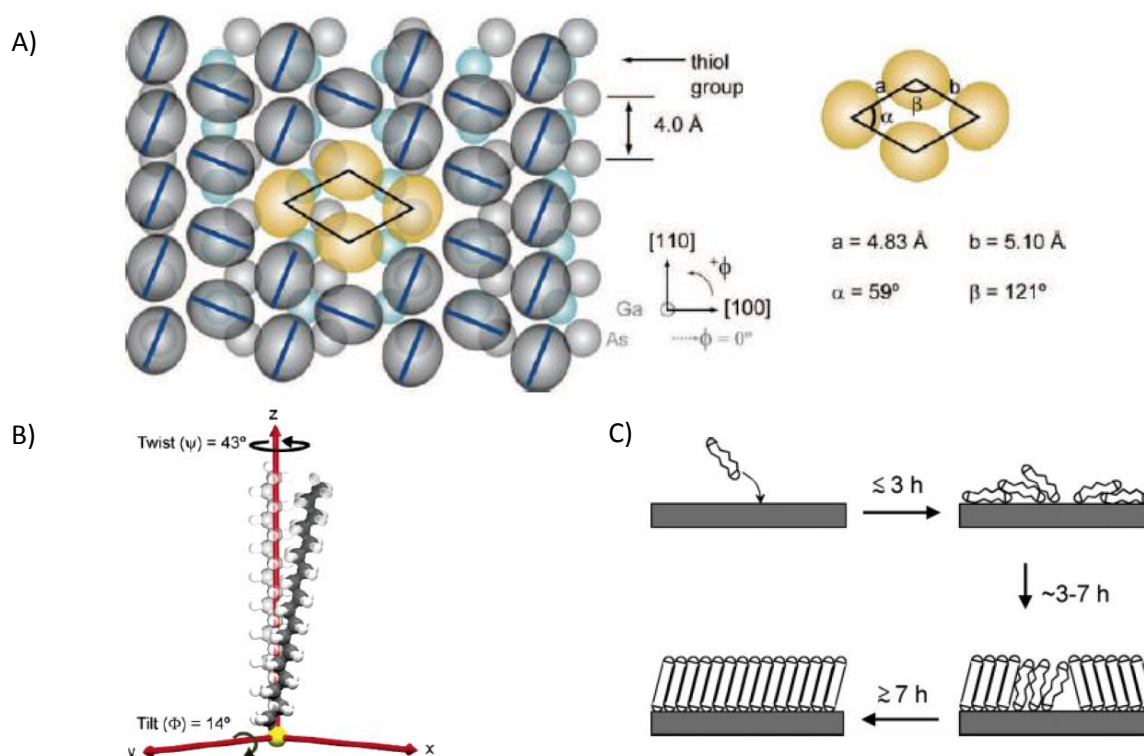


Figure 4.3 - A) Arrangement surfacique pseudo hexagonale de la monocouche assemblée d'octadecanethiol sur une surface de GaAs (110) [30], B) exemple d'orientation et de rotation d'une molécule d'octadecanethiol sur une surface de GaAs (100) et C) influence du temps d'incubation sur l'organisation de cette couche [51]

Les forces d'interactions inter-moléculaires étant constantes, la formation et l'organisation de cette monocouche sont fortement influencées par les forces d'interaction entre la surface et la molécule. Durant la conception du transducteur, le choix d'un substrat d'arséniure de gallium semi-isolant non dopé orienté (100) s'est imposé comme étant le choix le plus approprié pour la réalisation d'un biocapteur sensible. Pour cette raison, nous utiliserons ce substrat pour la réalisation de notre interface chimique. La fonctionnalisation de cette surface par les alkanethiols est de plus bien connue [24, 26, 50]. Les autres plans cristallins, bien moins étudiés, possèdent un comportement électrochimique de surface complètement différent qui peut être intéressant dans le cadre de la réalisation de notre biocapteur. Une étude complémentaire a d'ailleurs été initiée et est actuellement en cours pour vérifier l'influence des plans cristallins sur la réalisation de cette bio-interface. Le plan (110) [48, 52, 53] a été utilisé dans quelques études mais, à notre connaissance, seul un article de McGuiness et al. [30] a mis en évidence la différence de structure et d'organisation de

monocouche auto-assemblée formée sur les plans (100), (110) et (111). Le tableau ci-dessous reprend les principales caractéristiques de ces surfaces.

| Plan | (100) | (110) | (111A)-Ga | (111-B)-As- |
|-----------------------------|--|--|--------------------|--------------------|
| Schéma [⁵⁴] | | | | |
| Structure de la maille | carrée | rectangulaire | Hexagonale | |
| Atome présent en surface | Soit Ga (Ga rich), Soit As (As rich) | As et Ga en quantité équivalente | Ga uniquement | As uniquement |
| Polarité | Polaire | Non polaire | Polaire | Polaire |
| Liaisons pendantes | 2 liaisons pendantes pleines 2 liaisons pendantes vides | 2 liaisons pendantes pleines 2 liaisons pendantes vides | 1 liaison pendante | 1 liaison pendante |
| Stabilité | Très instable | Stable | Très stable | Instable |

Tableau 4.1 - principales caractéristiques des surfaces d'arséniure de gallium (100), (110) et (111)

Malgré la forte interaction entre les molécules constitutives de la monocouche, un effet du substrat est bien visible sur la conformation de la couche de thiols : pseudo hexagonal pour les plans (100) et (110) avec différents paramètres de maille et hexagonal pour le plan (111).

De plus, l'auto-organisation se faisant via l'interaction intermoléculaire, une longueur de chaîne minimale de 15 ou 16 carbones est requise pour un substrat GaAs (100) pour compenser la forte interaction avec ce dernier [^{25, 26, 30, 55}] alors qu'une surface GaAs (111A) ne semble pas permettre une auto-organisation. La bonne organisation de la surface se fait sous des conditions adéquates (nature et propriétés des solvants, température de la solution) [³¹] et un temps minimal de 7 heures est requis pour l'obtention d'une couche organisée à la surface de l'arséniure de gallium (100) [⁵¹].

Ces organisations sont données pour des surfaces très ordonnées et le désordre engendré par des étapes de gravure humide par exemple induit une désorganisation de la couche qui se traduit par des variations de tilt et de twist. Deux valeurs sont souvent données pour les couches d'octadecanethiol, une quinzaine de degré [^{14, 26, 28, 51, 56}] ou aux alentours de 57° [^{25, 57, 58}], ce qui, d'après l'équipe du professeur Dubowski [⁵⁰], correspond respectivement à une surface rugueuse après usinage (constituée après gravure humide d'une couche amorphe d'atomes As) et d'une couverture en thiols de 50% sur une surface théorique de GaAs (100). La même équipe montre aussi la différence d'inclinaison avec un groupement biphenyle (25 à 30°), étudié aussi par Adelkofer et al. [¹³], et

l'influence du groupement terminal sur l'orientation cristalline (Figure 4.4). La différence de tilt observée correspond aux différences entre les forces intermoléculaires et les interactions avec le substrat.

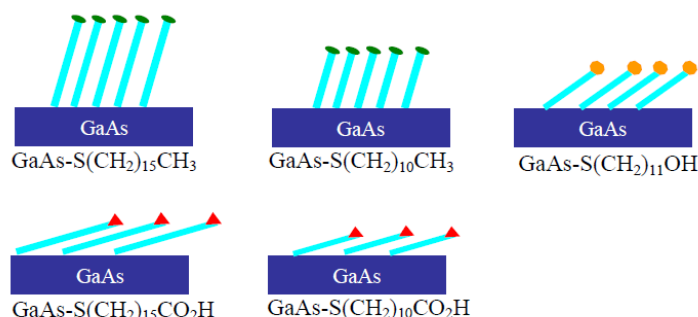


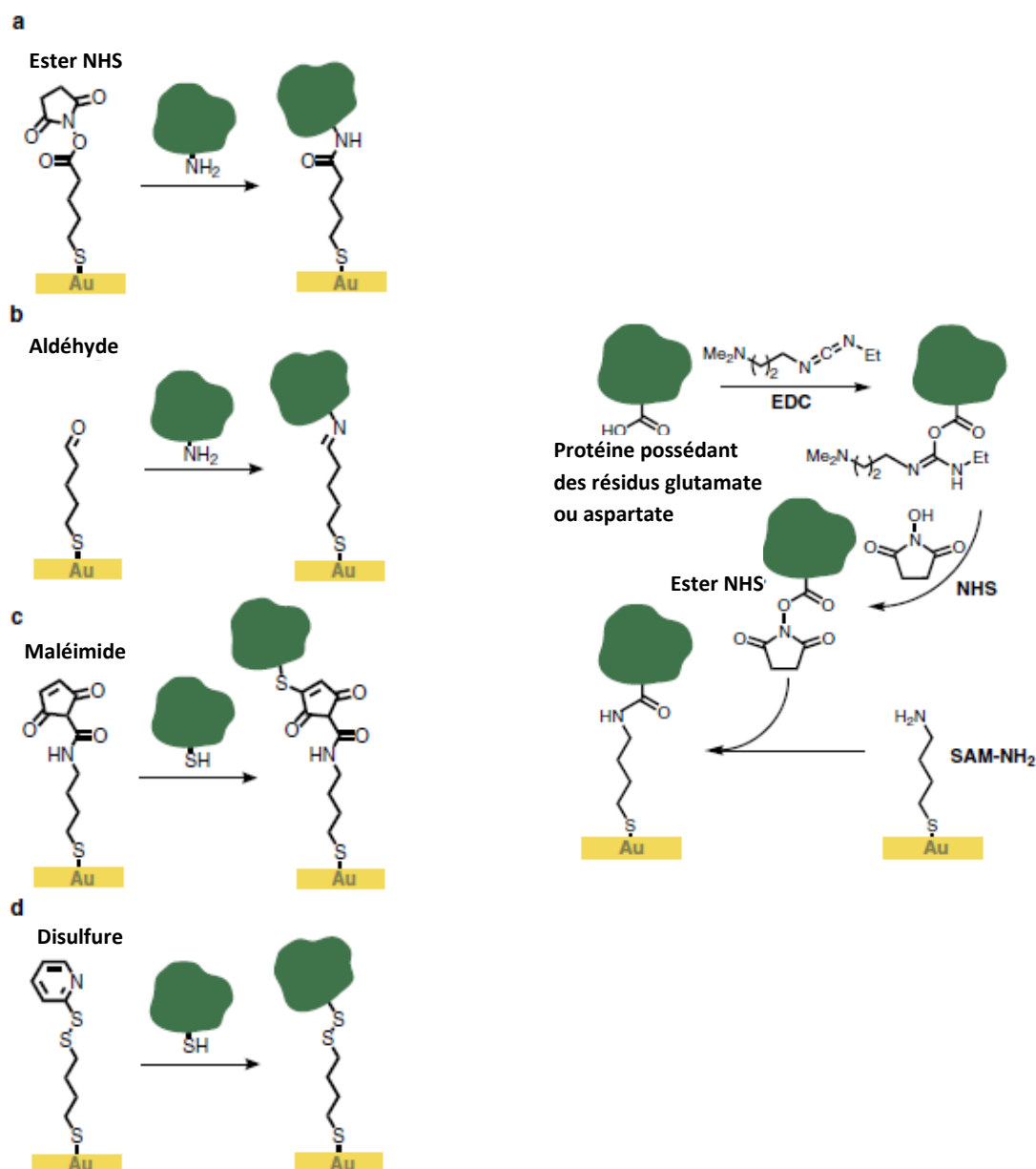
Figure 4.4 - Différentes inclinaisons obtenues pour des thiols présentant différents types de groupements fonctionnels [55]

4.1.4 Immobilisation protéique par l'intermédiaire d'une SAM

L'immobilisation protéique peut se faire suivant plusieurs processus. La méthode la plus utilisée est l'immobilisation covalente. La fixation de protéines se fait généralement via des groupements fonctionnels portés par des acides aminés particuliers de la protéine. De ce fait, une maîtrise de l'orientation de la protéine via un acide aminé particulier est possible en adaptant une chimie particulière de surface. Par exemple, Aoyagi et al. [59] montrent par spectrométrie de masse MALDI-TOF qu'il est possible d'orienter une monocouche de cytochrome b5 en l'immobilisant par une unique cystéine avec la surface d'or. Le tableau ci-dessous reprend les groupements fonctionnels portés par les acides aminés des protéines et les fonctionnalités de surface requises pour l'immobilisation de protéine.

| Fonction portée par la protéine | Acides aminés | Fonctionnalités de surface |
|---------------------------------|---------------------------|---|
| -NH ₂ | Lysine, Hydroxyle-Lysines | Acide carboxylique Ester activé (NHS) Epoxyde Aldéhyde |
| -SH | Cystéine | Maleimide Disulfure de pyridyle Vinyl sulfone |
| -COOH | Aspartate, Glutamate | Amine |
| -OH | Sérine, Thréonine | Epoxyde |

Tableau 4.2 – Groupements fonctionnels couramment disponibles dans les protéines et fonctionnalités de surfaces requises [60]



1) Méthodes utilisées pour l'immobilisation covalente avec les résidus nucléophiles des protéines : réaction d'un résidu lysine avec un groupement ester NHS (N-hydroxysuccinimide) (a) ou aldéhyde (b) et d'un résidu cystéine avec un groupe maléimide (c) ou un dérivé sulfure pour formé un pont disulfure (d).

2) Immobilisation covalente de protéine entre un résidu glutamate ou aspartate avec une surface fonctionnalisée proposant des groupements amines en surface. Le groupement carboxyle de la protéine a été activé grâce à une réaction intermédiaire N-ethyl-N-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC) après génération in situ d'un ester NHS actif

Figure 4.5 - Schéma de principe des principales méthodes d'immobilisation covalente de protéine sur or par l'intermédiaire de couches auto-assemblées [61].

Les fonctions amines portées par la lysine sont les points d'ancrage les plus utilisées. Leur grande abondance peut cependant générer une fixation par plusieurs points induisant un mauvais ordonnancement du tapis protéique sur la surface ainsi qu'une possible modification structurale et fonctionnelle. Plusieurs chimies de surface permettent la fixation sur la surface : un ester actif N-hydroxysuccinimide (NHS) (Figure 4.5 - 1a) formant une liaison très stable, des groupements

aldéhyde qui conduisent à la formation de liaison de Schiff (Figure 4.5 – 1 b) ou encore par activation de groupement carboxyle du substrat via une réaction avec N-ethyl-N-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC) et une génération *in situ* d'un ester actif (N-hydroxysuccinimide) (NHS). L'activation du groupement carboxyle porté directement par un acide aspartique ou glutamique de la protéine (Figure 4.5 2) via la même réaction EDC/NHS est similaire en tout point hormis le fait que l'activation ait lieu sur le substrat et non sur la protéine elle-même. Dans cette interaction de nombreux paramètres interviennent, notamment le pH, la concentration, la force ionique et le temps de réaction [62].

Les cystéines présentent un groupement thiol unique (-SH) qui permet de créer une liaison stable avec une maleimide (Figure 4.5 – 1c) ou créer un pont disulfide (Figure 4.5– 1d). Moins abondantes que les lysines, l'immobilisation aléatoire des cystéines est moins susceptible de se produire. Cette technique est d'ailleurs utilisée par Frolov et al. [63] ainsi que Sepunaru et al. [8] pour immobiliser des systèmes protéiques PSI. La protéine est fixée via une cystéine mutante sur une SAM acide *N*-ε-maleimidocaproïque (EMCA, chaîne alkyle contenant un groupement carboxyle chimisorbé sur la surface et un groupement maleimide fonctionnel). Cette hétérojonction entre une protéine photoactive (PSI) et un semiconducteur a montré un intérêt pour la réalisation de photo détecteurs [63].

Le contrôle d'adsorption protéique sur une surface peut aussi se faire par réactions de bioaffinité. Ces techniques sont très utilisées pour l'immobilisation « douce » de molécules biologiques sur la surface et permettent un contrôle du nombre de sites d'accroche et une orientation des zones de biorecognition. La liaison n'étant pas covalente, il est possible de détacher les protéines immobilisées et de réutiliser la surface pour réaliser de nouvelles interactions. Ces interactions reposent sur le principe de reconnaissance « clé / serrure » de deux entités biologiques pour la fixation d'une protéine particulière sur la surface spécialement modifiée. La méthode la plus couramment rencontrée est celle utilisant une réaction d'affinité, non covalente, entre l'avidine (mais aussi la streptavidine ou la neutravidine) et une protéine possédant un groupement biotine. L'avidine est une protéine possédant 4 sous unités identiques de reconnaissance (homotétramérique) pouvant se lier chacune avec la biotine avec un degré de spécificité et d'affinité très important (constante de dissociation $K_D = 10^{-15} \text{ M}$), ce qui fait du système avidine/biotine des liaisons non covalentes très fortes. Cette technique est très utilisée dans le domaine des biocapteurs et notamment ceux en Arséniure de Gallium [22, 40, 64, 65]. L'équipe du professeur Jan J. Dubowski est très active dans ce domaine et l'étude de leurs publications montre l'évolution de leur biointerface. En 2006, ils montrent le bon greffage de l'avidine sur la surface de GaAs grâce à des nanobilles biotinylées [64]. Ils utilisent pour cela une fonctionnalisation de la surface d'arséniure de gallium par des alkanethiols possédant une fonction amine où la biotine peut se fixer covalamment. La fixation des nanobilles se fait alors en deux étapes, une première réaction d'affinité entre la biotine et l'avidine puis une seconde entre l'avidine et la biotine fixée sur les nanobilles. Les observations de photoluminescence, d'AFM et de fluorescence mettent en évidence la bonne adhésion des nanobilles biotinylées sur la surface. La même année, ils modifient leur interface chimique et montrent par photoluminescence et microscopie de fluorescence que des thiols biotinylés conviennent mieux pour le greffage de l'avidine que les thiols avec des terminaisons amines [65] (mélange mixte de thiols biotinylés et de thiols avec des groupements terminaux alkyles). Par la suite,

Duplan modifie encore la chimie de fonctionnalisation en utilisant des PEG thiolés avec des terminaisons biotine et hydroxyle pour greffer des virus influenza A [40] ou des bactéries *Escherichia Coli* [22]. Dans ce dernier article, le système PEG biotinylé / avidine est remplacé par une couche de Si_3N_4 permettant de greffer directement les anticorps sur la surface via l'aldéhydisation d'un résidu glutamate.

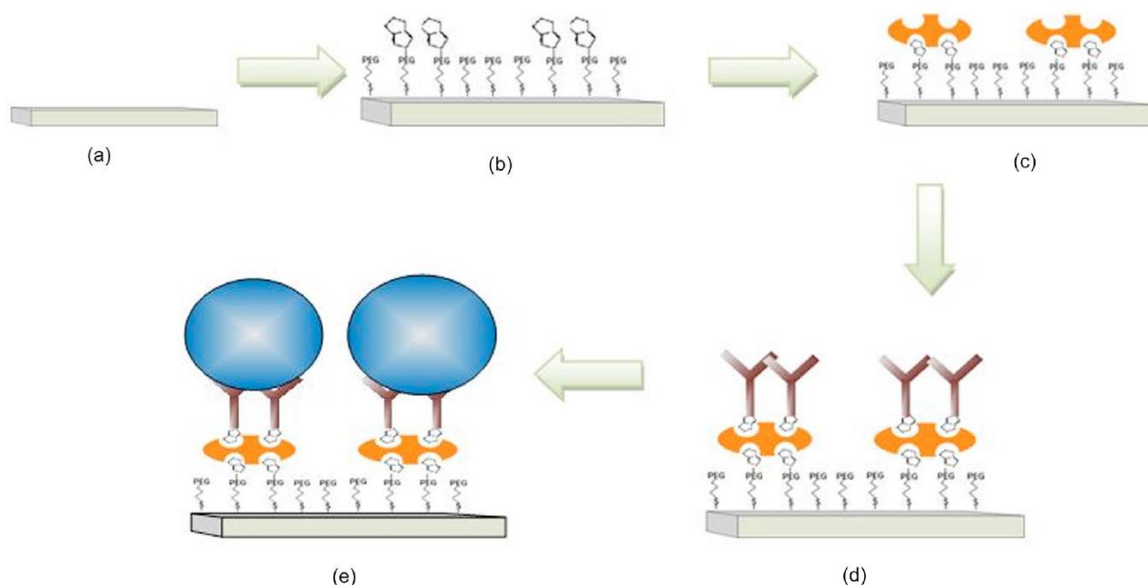


Figure 4.6 - représentation schématique des différentes étapes de biofonctionnalisation afin d'immobiliser des virus influenza A sur une surface d'arséniure de gallium (100) : a) substrat nettoyé et désoxydé, b) substrat fonctionnalisé par des molécules de polyéthylène glycol avec des terminaisons biotine et hydroxyle, c) incubation dans la solution de neutravidine, d) immobilisation de l'anticorps contre le virus influenza A via la neutravidine, e) capture du virus en solution. [40]

4.1.5 Stratégie utilisée

Initialement utilisée pour la fonctionnalisation de puces d'or pour l'analyse SPR, nous avons réutilisé cette chimie constituée de thiols mixtes en l'adaptant pour la biofonctionnalisation de la surface d'arséniure de gallium. Cette méthode de fixation a pu être éprouvée dans de nombreux travaux sur surface d'or [41, 66]. Cette bio-interface est constituée d'une monocouche auto-assemblée mixte constituée de deux types d'alkanethiols :

- Un alkanethiol composé d'une chaîne de 16 carbones et d'un groupement terminal carboxyle, l'acide 16- mercapto-1-hexadecanoïque. Sa formule brute est $\text{SH}-(\text{CH}_2)_{15}-\text{COOH}$ et nous le nommerons par la suite MHDA.
- Un alkanethiol composé d'une chaîne de 11 carbones et d'un groupement terminal hydroxyle, le 11- mercapto-1-undecanol. Sa formule brute est $\text{SH}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{OH}$ et nous le nommerons par la suite MUDO.

Ces deux molécules sont des thiols, elles possèdent donc un groupement d'accroche thiol (-SH) permettant la liaison avec la surface d'arséniure de gallium. La fonctionnalisation de l'arséniure de gallium par ces deux molécules a d'ailleurs précédemment été publiée [55, 67]. Les chaînes carbonées (-CH₂-CH₂-) diffèrent de par le nombre de groupements méthylène utilisés. Les molécules de MUDO sont constituées d'une chaîne plus courte et d'un groupement hydroxyle (-OH) afin de créer une barrière physique inerte entre le substrat et la protéine. Les 15 carbones de la molécule de MHDA font que cette molécule dépasse de la couche et a) facilitent l'accès au groupement terminal carboxyle (-COOH) qui est utilisé pour la fixation des molécules biologiques et b) réduit les problèmes d'encombrement stérique [32, 43, 68].

La fixation protéique sur la surface fonctionnalisée se fait par activation des groupements carboxyles par l'intermédiaire d'une réaction avec l'EDC (1-ethyl-3-[3-diméthylaminopropyl]carbodiimide) puis d'une réaction avec le NHS (*N*-hydroxysuccinimide). La protéine est alors fixée via un groupement amine (-NH₂) d'un résidu lysine.

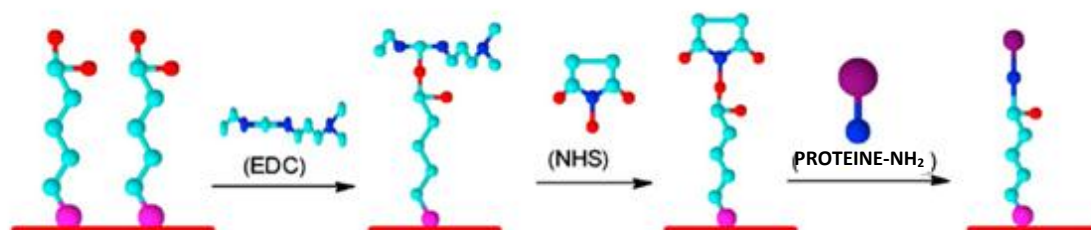


Figure 4.7 - Activation des groupements carboxyles de la surface via une réaction EDC / NHS et immobilisation via un groupement amine présenté par une lysine de la protéine [11]

Le but ultime est de réaliser un immunocapteur, donc de greffer un anticorps sur la surface. N'ayant pas encore tranché sur le modèle biologique que nous allons tester (donc sur l'anticorps que nous allons greffer), nous avons démarré l'étude de greffage protéique en utilisant l'albumine de sérum de rat (RSA) mais un grand nombre de protéines peuvent utiliser ce même processus du fait de sa flexibilité. Il est cependant important de vérifier les conditions de pH, le temps de réaction, la concentration des réactifs, les forces ioniques mises en jeu afin de conserver des conditions de greffage idéales.

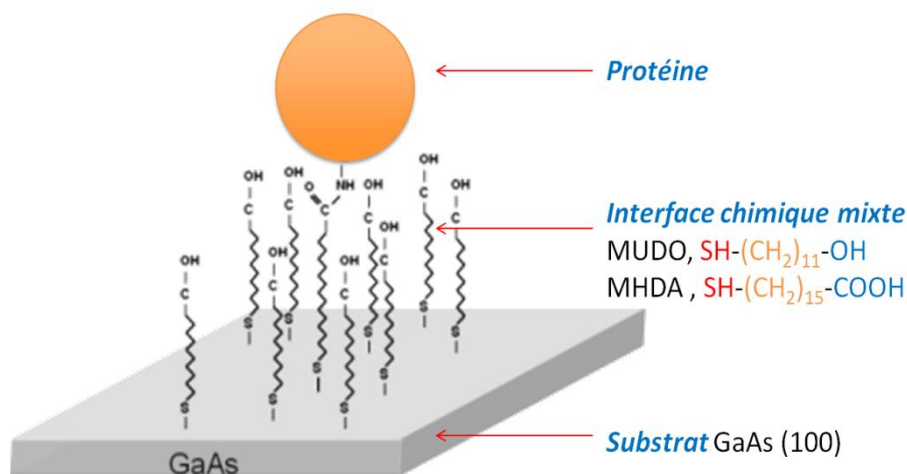


Figure 4.8 - Représentation schématique de l'immobilisation de la protéine sur la surface de GaAs

Durant ce chapitre, nous allons étudier les différentes phases permettant l'obtention d'une telle interface que nous chercherons à optimiser en vue de l'obtention d'une couverture protéique sous forme d'une monocouche dense et homogène. Dans un premier temps, nous vérifierons la bonne fonctionnalisation du substrat de GaAs (100) par auto-assemblage d'une monocouche mixte MHDA/MUDO en nous intéressant aux modifications des propriétés de tension de surface mais aussi à l'épaisseur, à l'homogénéité et à la composition de la couche. Ensuite, nous testerons les capacités de fixation protéique de cette interface chimique mixte que nous comparerons à des échantillons de référence. Nous validerons aussi la formation de liaisons covalentes, la répartition, l'organisation et l'épaisseur de la couche protéique sur ces différentes surfaces. Cette investigation se fera par une approche qualitative et semi-quantitative originale couplant les méthodes de caractérisation d'imagerie par microscopie à force atomique à la spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation – Time Of Flight). Cette approche nous permettra de définir le ratio optimal MHDA / MUDO afin de permettre l'obtention d'une monocouche protéique dense et homogène à la surface du GaAs, favorable à une détection très sélective et sensible en milieu biologique complexe.

4.2 Protocole expérimental et méthodes de caractérisation

4.2.1 Stratégie

Un auto-assemblage de haute qualité d'une monocouche de thiols à la surface de l'arséniure de gallium (100) est possible uniquement après un nettoyage drastique de la surface, la suppression de la couche d'oxyde natif se formant spontanément et le retrait d'une couche (la couche amorphe) dont la structure atomique est désorganisée. La fonctionnalisation de la surface se fait ensuite par voie humide, le temps d'incubation et les conditions environnementales étant validés pour obtenir une couche bien organisée. Le greffage protéique sur cette surface modifiée est scindé en 4 étapes consistant à activer les groupements carboxyles des molécules de MHDA via une réaction EDC/NHS, à

déposer la solution protéique, à rincer la surface pour éliminer le surplus de protéines juste adsorbées et enfin à désactiver des groupements carboxyles par l'éthanolamine.

La bonne fonctionnalisation de la surface par notre interface mixte MHDA/MUDO est validée par une approche multi échelle utilisant des techniques de caractérisation de surface telles que la mesure par angle de goutte, par ellipsométrie, par spectrométrie photoélectronique à rayon X (XPS) ou encore par imagerie par microscopie à force atomique (AFM). Une approche originale couplant l'imagerie AFM à la spectrométrie de masse MALDI-TOF simple (MS) et tandem (MS²) permet de valider l'établissement d'un tapis protéique sur la surface de GaAs.

Afin de s'affranchir des différences de substrat lors d'expérience comparative, les échantillons sont issus d'un même wafer et les échantillons sont découpés au fur et à mesure des différentes étapes du processus de fonctionnalisation / greffage. La découpe se fait par clivage (direction <110>), une partie étant caractérisée et l'autre passant à l'étape protocolaire ou de caractérisation suivante. La répétabilité et la fiabilité de nos résultats sont contrôlées : 3 puces sont testées pour chaque condition et plusieurs caractérisations à divers endroits de chaque puce sont réalisées. La figure ci-dessous reprend schématiquement les étapes successives protocolaires et de caractérisations réalisées pour valider le bon greffage de protéine sur une surface de GaAs modifiée par une monocouche 10% MHDA.

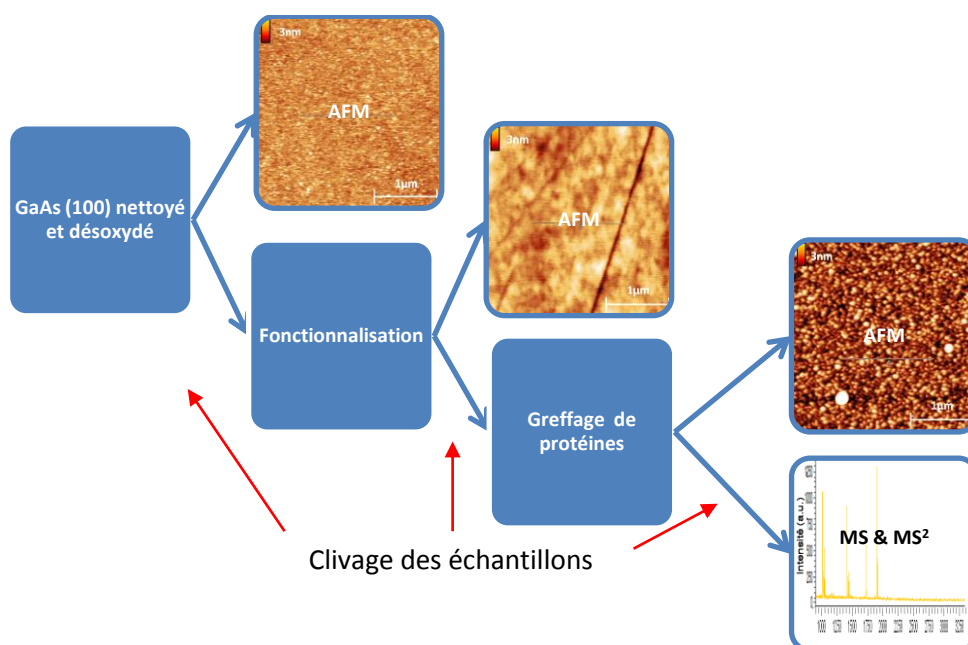


Figure 4.9 - Protocole et contrôle de greffage de protéines sur une surface de GaAs (100) fonctionnalisée 10% MHDA.

Plusieurs interfaces chimiques mixtes composées de différents ratios de molécules de MHDA et de MUDO sont testées. Elles sont comparées au substrat nettoyé et désoxydé (substrat nu) et à quelques interfaces utilisées comme contrôle : surfaces fonctionnalisées par l'ODT (pour la visualisation des modifications induites par la fonctionnalisation sur la surface) ou des substrats fonctionnalisés 100% MUDO et 100% MHDA pour la fixation protéique. Le tableau ci-dessous reprend l'essentiel des surfaces testées et les méthodes de caractérisation associées.

| | Objectifs | Interface chimique | RSA | Méthode de caractérisation |
|--------------------|---|---|---|--|
| Fonctionnalisation | Modification des propriétés surfaciques après fonctionnalisation | Nu ODT MUDO MHDA 3%MHDA | non | Angle de contact |
| | Chimisorption monocouche validée par mesure d'épaisseur | Nu ODT | non | Ellipsométrie |
| | Composition de la couche présente en surface | Nu ODT 3% MHDA | non | XPS |
| | Modification topographique, répartition et épaisseur de la monocouche | Nu ODT 3% MHDA 10% MHDA | non | AFM contact / air Retrait de couches par force de contact pointe / substrat importante |
| Greffage protéique | Modification topographique suite au greffage protéique, densité et motifs observés | Nu 0% MHDA 3% MHDA 10% MHDA 20% MHDA 50% MHDA 100% MHDA | non puis oui oui oui non puis oui oui oui oui | AFM contact / air |
| | Physisorption ou greffage covalent | Nu 0% MHDA 3% MHDA 10% MHDA 100% MHDA | oui | AFM contact / air Retrait de couches par force de contact pointe / substrat modérée et importante |
| | Epaisseur et densité de la couche protéique greffée | Nu 0% MHDA 3% MHDA 10% MHDA 100% MHDA | oui | AFM contact / air Retrait de couches par force de contact pointe / substrat importante |
| | Analyse qualitative et semi-quantitative de protéine déposée par spectrométrie de masse | Nu 0% MHDA 3% MHDA 10% MHDA 20% MHDA 50% MHDA 100% MHDA | oui | MS et MS ² |

Tableau 4.3 – Type d'interfaces chimiques testées et méthodes de caractérisation utilisées pour confirmer la bonne fixation d'une monocouche dense de biorécepteurs à la surface de GaAs.

4.2.2 Protocole de fonctionnalisation chimique et de greffage protéique sur GaAs

4.2.2.1 Préparation de la surface

- Substrat

Les échantillons sont découpés sous forme de puces à partir de substrats de GaAs semi-isolants non dopés orientés (100). Nous utiliserons uniquement des fragments de wafer pour des raisons de coût mais aussi, dans le cas d'étude comparative, pour s'assurer que le substrat est bien identique entre les différentes techniques d'analyses. Les découpes se feront suivant la direction de clivage du GaAs, soit la direction $\langle 110 \rangle$, grâce à une pointe diamant.

- Nettoyage

Le protocole de fonctionnalisation commence par un nettoyage drastique de la surface. L'échantillon est immergé successivement dans une solution de détergent (Decon[®]), de l'acétone, de l'acide sulfochromique préparé extemporanément (2% en volume de dichromate de potassium saturée et 98% d'acide sulfurique) et de l'éthanol. Le temps d'immersion est de 10 min sous agitation dans un bac à ultrasons sauf pour l'acide sulfochromique où le temps d'incubation est de 1 min sans agitation. Entre chaque étape, les échantillons sont rincés à l'eau dé-ionisée et séchés sous flux d'azote.

- Suppression de la couche amorphe

Le polissage mécanique des wafers, nécessaire à l'obtention de face polie, engendre des contraintes à la surface du wafer. Ces contraintes peuvent provoquer une désorganisation atomique sur une épaisseur de 1 à 2 μm . Pour supprimer cette couche amorphe afin d'atteindre le cristal, cette couche peut être retirée par une phase d'usinage par gravure humide. Afin de ne pas structurer la surface, nous utiliserons un bain $7 \text{ H}_3\text{PO}_4 : 5 \text{ H}_2\text{O}_2 : 8 \text{ H}_2\text{O}$ (ratio en volume) dans des conditions d'agitation et de température identiques à celle présentée au paragraphe 3.5.2.3.

- Désoxydation de la surface

Du fait de la forte réactivité de la surface avec les atomes d'oxygènes, un oxyde de surface se forme spontanément. Ce phénomène d'oxydation est à proscrire dans le cas de la fonctionnalisation de la surface par les thiols. L'oxyde de surface, qui engendre un état électronique plus stable de la surface, ne permet plus la chimisorption de thiols sur la surface. Il convient donc de retirer cette couche. Nous utilisons pour cela un mélange composé d'acide chlorhydrique et d'eau (1 : 1 en volume) pour retirer cet oxyde. Notons ici que la réaction est stoppée automatiquement dès le retrait de la couche d'oxyde, la réaction entre l'arséniure de gallium et l'acide chlorhydrique nécessitant la création d'un complexe oxydé pour se poursuivre (§ 3.3). Directement après la désoxydation du substrat, celui-ci doit être plongé dans la solution de fonctionnalisation, afin d'éviter sa réoxydation.

- Fonctionnalisation de la surface

La fonctionnalisation de la surface se déroule en milieu liquide, ce qui permet des coûts de réalisation très faibles et de réaliser un grand nombre d'échantillons simultanément et de manière très reproductible. La fonctionnalisation se fait par immersion des échantillons dans une solution concentrée à 1 mM de molécules de thiols dans de l'éthanol. L'immersion dure une nuit (environ

12h) sous agitation avec le plateau rotatif et à température ambiante. Dans la littérature, l'octadecanethiol (Octadecyl mercaptan (ODT ou OM), de formule brute $\text{SH}-(\text{CH}_2)_{17}-\text{CH}_3$) est la molécule la plus répandue pour la formation de monocouche auto-assemblée sur GaAs dans le but de passiver la surface. Pour cela, nous l'utiliserons à titre de comparaison pour valider notre processus de fonctionnalisation puis nous comparerons les résultats obtenus avec notre interface mixte MHDA/MUDO.

La préparation de la solution de fonctionnalisation se fait par dilution des molécules dans une solution d'éthanol afin d'obtenir une solution concentrée à 1mM. Présentées sous forme de poudre, nous pesons dans un premier temps une quantité de poudre permettant l'obtention d'un volume suffisant de solution de fonctionnalisation pour notre surface (quelques mg).

Le volume nécessaire à l'obtention d'une solution concentrée à 1mM est alors la masse mesurée (m) divisée par la masse molaire de la molécule (M avec $M_{\text{OM}} = 286.5 \text{ g.mol}^{-1}$, $M_{\text{MHDA}} = 285.5 \text{ g.mol}^{-1}$, $M_{\text{MUDO}} = 204.38 \text{ g.mol}^{-1}$) multipliée par la concentration finale de la solution $C = 1\text{mM} = 1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

$$V_f = \frac{m}{M * C}$$

On dilue alors la poudre dans le volume (V_f) sous agitation aux ultrasons pendant 10 min. Pour les solutions MHDA et MUDO, la poudre est diluée uniquement dans de l'éthanol alors que, pour l'ODT, la poudre est diluée à 4/5 dans de l'éthanol et à 1/5 dans de l'eau dé-ionisée. Pour les solutions mixtes MHDA / MUDO, les ratios X % MHDA dilué dans Y% MUDO (avec $Y=1-X$) sont obtenus après réalisation de deux solutions MHDA et MUDO concentrées à 1mM. Le mélange se fait alors volume à volume pour obtenir une solution de volume Z concentrée à 1mM composée de X % MHDA / Y% MUDO ($V_{\text{MHDA}} = X\%*Z$ et $V_{\text{MUDO}} = Y\%*Z$). Afin de simplifier les notations, nous noterons par la suite les solutions de ratio X % MHDA / Y% MUDO ($Y=1-X$) par X% MHDA.

Remarque : l'ajout d'une faible quantité d'ammoniaque (NH_4OH) dans ces solutions de fonctionnalisation est possible afin d'éviter la reformation d'oxyde natif dans ces solutions. Cette option n'a pas été utilisée lors de nos expériences.

Les échantillons sont ensuite rincés à l'éthanol, à l'eau désionisée puis séchés et conditionnés pour une caractérisation ultérieure.

4.2.2.2 Greffage protéique sur la surface fonctionnalisée

- Activation de la surface

L'activation des groupements carboxyles des molécules de MHDA se fait par l'intermédiaire d'une réaction entre l'EDC et le NHS suivant la réaction présentée dans la Figure 4.5.2. Deux aliquots contenant respectivement l'EDC et le NHS sont mélangés et agités pour assurer une bonne

homogénéité de la solution. La solution est ensuite déposée sur la surface de l'arséniure de gallium pour activation pendant 30min sans agitation.

- Dépôt et fixation de la protéine sur la surface

La protéine utilisée est de l'albumine de sérum de rat (RSA), qui se présente sous forme de poudre (poids moléculaire 65 000 Da, soit 65000 g/mol). La dilution de la RSA en solution se fait en deux temps. Tout d'abord, une première solution concentrée à 1 mg/mL est obtenue par dilution de la RSA dans de l'eau désionisée (1mL d'eau par mg de RSA). Ensuite, la solution obtenue est diluée dans un tampon acétate pH 5.2 pour obtenir une concentration finale de 40 µg/mL. Nous utilisons ici un tampon acétate pH 5.2 car cette solution et cette valeur de pH est la plus favorable pour le greffage de protéine sur la surface. Le greffage se fait sous agitation aux ultrasons pendant 20 min à une température proche de 20°C.

- Suppression du surplus protéique adsorbé à la surface

Afin d'éliminer les protéines greffées de manière non covalente sur la surface, nous utilisons un détergent, l'Octyl β-D-glucopyranoside (OG) dilué à une concentration de 40 mM dans un tampon salin phosphate (PBS 1x, pH7). Le rinçage se fait sous agitation aux ultrasons pendant 10 min.

- Désactivation des groupements carboxyles

Les sites d'accroches carboxyles activés via la réaction avec l'EDC puis le NHS et non impliqués dans une liaison à la protéine sont ensuite désactivés par l'intermédiaire de l'éthanolamine. La désactivation dure 30 minutes sans agitation. Les échantillons sont ensuite rincés à l'eau désionisée, séchés et conditionnés pour une caractérisation ultérieure.

4.2.3 Méthodes de caractérisation

4.2.3.1 Analyse des surfaces fonctionnalisées chimiquement

Pour mettre en évidence la modification électrochimique de la surface après fonctionnalisation, des méthodes de caractérisation multi-échelles sont employées. L'analyse de la mouillabilité de surface permet à l'échelle macroscopique de vérifier la présence d'une couche à la surface de l'échantillon présentant des caractéristiques différentes du substrat nu. L'AFM nous renseigne, à l'échelle micro/nanoscopique, sur la modification topographique de l'échantillon ainsi que sur l'épaisseur et l'homogénéité de la couche. L'ellipsométrie nous permet d'estimer la hauteur de la couche greffée (quelque dizaine d'angströms) et l'XPS nous informe sur la composition moléculaire de celle-ci.

- Angle de contact

La mesure se fait en déposant une goutte de 2µL d'eau déionisée sur la surface à caractériser puis en mesurant l'angle formé entre la tangente à la goutte et la surface. Le goniomètre utilisé est un goniomètre DIGIDROP (GBX) qui mesure l'angle de contact avec une précision de ± 2°.

- Ellipsométrie

L'appareil utilisé pour la mesure est un ellipsomètre à modulation de phase Jobin Yvon UVISSEL (lampe xenon 75 W balayant de 260 à 2100 nm, taille de spot comprise entre 0.05 et 1 mm). La mesure est réalisée en réflexion avec un angle d'incidence fixe de 70° et en balayant une plage de longueur d'onde de 1.7 à 4.7 eV (275 à 730 nm).

- XPS

L'analyse XPS est menée sur un spectromètre ThermoElectron VG équipé de deux sources rayon X Mg K α et Al K α d'énergie différente. La pression initiale à l'intérieur du spectromètre est inférieure à 5.3.10⁻¹¹ Torr et la pression lors de la mesure est maintenue autour de 3.5.10⁻¹⁰ Torr. Les énergies des spectres obtenues sont recalibrées pour faire coïncider le pic C1s avec l'énergie 285 eV. Les spectres Ga3s, O1s et C1s sont collectés sur des substrats nus et fonctionnalisés en utilisant la source d'irradiation Mg K α .

4.2.3.2 Analyse du greffage protéique sur la surface de GaAs fonctionnalisée

Une méthode de caractérisation originale couplant l'imagerie par microscopie à force atomique (AFM) et la spectrométrie de masse MALDI-TOF est utilisée. Ces deux techniques de caractérisation sont complémentaires et permettent d'obtenir des informations qualitatives mais aussi semi-quantitatives des molécules présentes à la surface de l'échantillon. La première technique focalise sur la modification topographique de l'échantillon et les propriétés d'adhésion de la couche. De manière complémentaire, la spectrométrie de masse montre le potentiel d'identification *in situ* de protéine sur la surface de GaAs et, grâce à une analyse comparative et automatique, nous donne des informations semi-quantitatives des molécules greffées sur la surface.

- Analyse par microscopie à force atomique

L'AFM est un Veeco® multimode / Nanoscope IIIa utilisé en mode contact à l'air ambiant. Dans ce mode de fonctionnement, la pointe est directement en contact avec la surface de l'échantillon et scanne celle-ci pour retranscrire sa topographie grâce à des actionneurs piézoélectriques (x,y). A chaque point (x,y), la variation de hauteur est enregistrée grâce à la déviation de position d'un faisceau laser sur un photo-détecteur, le faisceau laser étant réfléchi sur le dos de la pointe. Cette variation est tout de suite compensée par l'asservissement en position d'un actionneur piézoélectrique (z) afin de conserver une force constante lors du balayage.

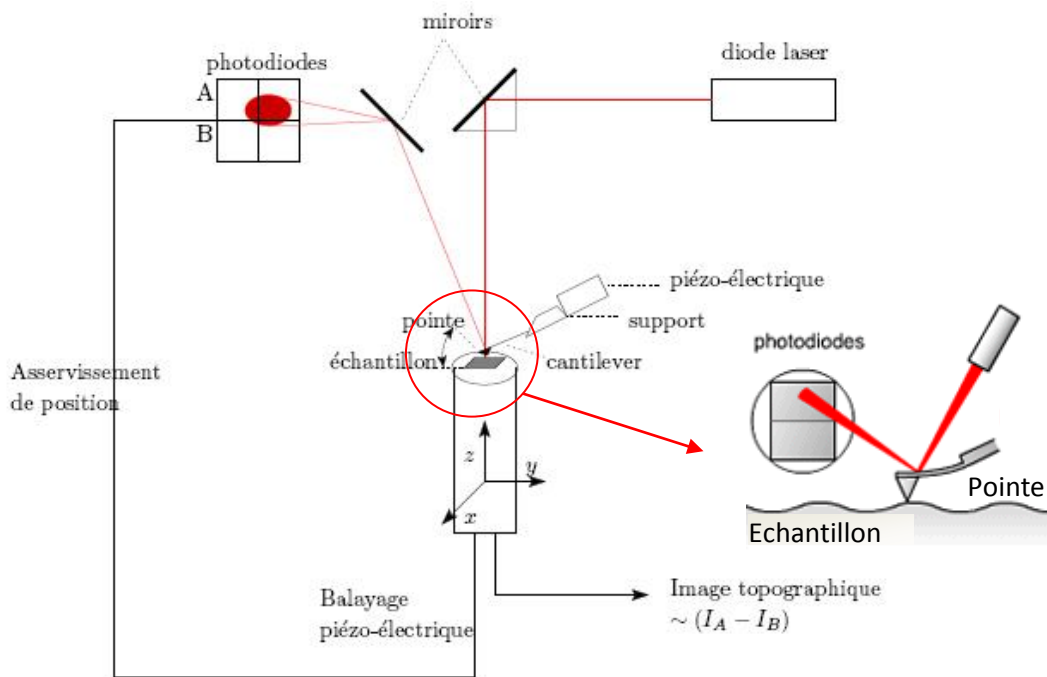


Figure 4.10 - Schéma de principe du fonctionnement d'un AFM en mode contact

Traitement des données et taille des images

Chaque image est composée de 512 lignes (x), elles-mêmes constituées de 512 points (y) et la vitesse du balayage est de 2 lignes par secondes. Bien que des images de 3 μm de côté soient uniquement présentées, des balayages de différentes dimensions sont réalisées afin d'avoir des observations à plus grande échelle (images de 30, 10 et 5 μm) ou plus résolues (images de 1 μm et moins).

Choix du cantilever

Les pointes utilisées sont des pointes Veeco® NPS10 en nitrure de silicium. Chaque support contient 4 cantilevers triangulaires de raideur différente au bout desquels sont situées les pointes pyramidales dont le rayon de courbure est compris entre 10 et 40 nm. La figure ci-dessous reprend les différentes rigidités des cantilevers supportant les pointes NPS10.

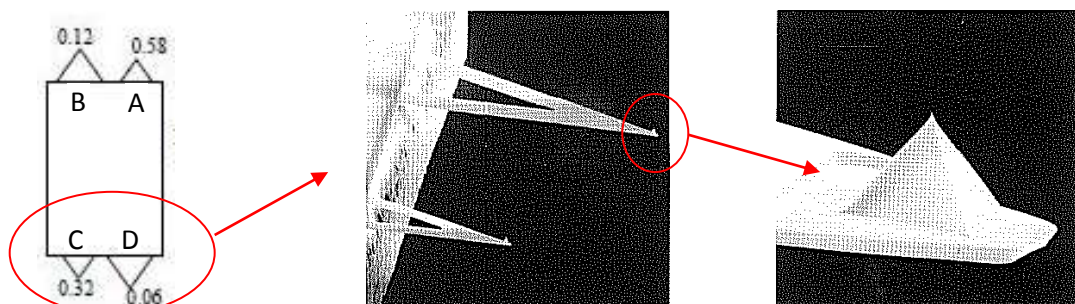


Figure 4.11 - Rigidité (en N/m) des différents cantilevers supportant les pointes

Pour imager les protéines, on cherchera à exercer une force entre la pointe et l'échantillon la plus faible possible afin que la surface ne soit pas altérée par le balayage de la pointe. Pour cela, nous conserverons une déflexion du cantilever la plus faible possible (mais permettant tout de même un contact permanent de la pointe sur la surface) et utiliserons un levier très souple NPS10 ($k = 0.06$ N/m). Pour le grattage, l'effort entre la pointe et l'échantillon doit être modéré dans un cas et très fort dans l'autre. Nous forcerons alors la déflexion du levier au maximum dans les deux cas (10 V de déflexion sur les photodiodes) et nous choisirons des cantilevers respectivement moyennement souple NPS10B ($K = 0.12$ N/m) et très rigide NPS10A ($k = 0.58$ N/m). La vitesse de balayage lors de grattage est aussi fortement accélérée, nous effectuons un aller-retour en balayant 128 lignes avec une vitesse de 10 lignes par seconde, soit 25.6 secondes pour gratter la surface.

Effet de la pointe sur l'image

Nous l'avons compris, l'image observée est une représentation de la topographie de surface par l'intermédiaire de la pointe. Il convient donc de conserver à l'esprit que l'image observée est la convolution de la topographie de surface et de la forme de la pointe. Trois paramètres vont induire des modifications importantes sur l'image :

- Le rayon de courbure de la pointe : Compris entre 10 à 40 nm, il est de taille comparable aux motifs à imager. La forte proximité attendue des protéines empêche aussi la pénétration de la pointe dans la couche. Le rayon de courbure agit dès lors comme un filtre mécanique sur l'image.
- La période d'échantillonnage : Nous réalisons des images de 512 par 512 pixels représentant des surfaces carrées de 3 μm de côté, il s'en suit que le pas entre deux pixels est d'environ de 6 nm, ce qui induit aussi un filtre sur l'image.
- Les flans pyramidaux : Les flans de la pointe sont inclinés à 35° par rapport à la normale à la surface. Ils vont donc induire un élargissement des motifs pour des objets en relief et un rétrécissement des motifs pour des objets en creux.

Dans notre cas, vu la taille des motifs à imager, l'effet des flans est négligeable. La réalisation d'images plus résolues (scan de 1 μm , soit un pas d'environ 2 nm) n'a pas non plus permis de visualiser plus de détails sur la surface. Nous pouvons donc en conclure que le rayon de courbure de la pointe est donc prédominant et va limiter la résolution de notre image. Bien qu'il soit impossible de distinguer clairement les formes exactes des protéines du fait de ces effets, une analyse comparative est tout à fait justifiée et l'analyse complémentaire par MS / MS² permettra de corroborer les observations faites.

- MS et MS² MALDI-TOF

Le spectromètre de masse utilisé est un MALDI-TOF Bruker Daltonics® UltrafleXtrem. Ce spectromètre de masse couple une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI) avec un analyseur à temps de vol (TOF). Le schéma de principe est défini ci-dessous.

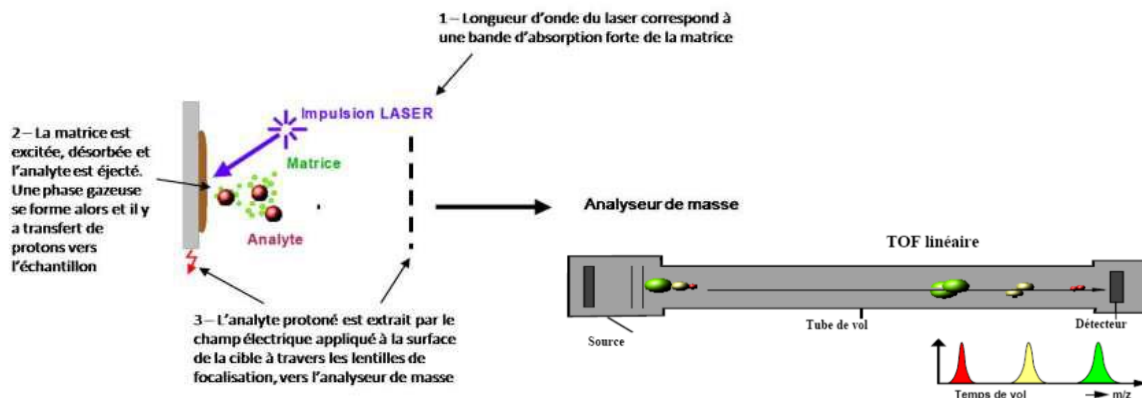


Figure 4.12 - Principe du spectromètre de masse MALDI-TOF

Avant analyse de la puce dans le spectromètre, la puce est préparée suivant une procédure incluant trois étapes :

- une réduction TCEP (Tris2-arboxyethylphosphine 20 mM dans une solution tampon NH₄HCO₃, 10 min à 37°C), qui supprime des ponts disulfures et permet de mieux exposer la protéine à l'étape de digestion suivante.
- une phase de digestion protéique par la trypsine (Trypsin Gold Mass Spectrometry Grade, Promega®, 10 ng/μL, 37°C) qui découpe la protéine au niveau de certaines liaisons peptidiques.
- Un dépôt de matrice HCCA (α-cyano-4-hydroxycinnamic acid, Bruker Daltonics®, 1.5 mg/mL in 50/50 acetonitrile/TFA 0.25%) qui va faciliter l'ionisation/désorption des fragments protéiques.

Cette procédure est faite automatiquement grâce au module Imageprep de Bruker Daltonics® qui pulvérise les différentes solutions à la surface de l'échantillon. L'échantillon est ensuite déposé sur une cible développée au laboratoire pour être analysé directement dans la chambre du spectromètre. Des impulsions lasers, de longueur d'onde compatible avec une bande d'adsorption

forte de la matrice, sont envoyées sur l'échantillon afin d'ioniser puis de désorber la matrice et les analytes présents à la surface de la puce. Pour chaque analyse, 2000 impulsions laser sont réalisées sur une fenêtre de $120\mu\text{m} \times 120\mu\text{m}$. L'analyte protoné est alors extrait par un champ électrique et vole jusqu'au détecteur. Le vol sous vide permet de séparer les molécules en fonction de leur rapport masse/charge (m/z , m masse molaire (unité de masse atomique) et z charge effective portée (sans unité)). Un spectre d'intensité en fonction de ce rapport m/z est alors édité et permet de visualiser les peptides présents à la surface. La séquence peptidique obtenue est alors comparée aux séquences peptidiques théoriques contenues dans la base de données SwissProt et permet l'identification de la protéine. La probabilité pour que la protéine identifiée soit bien celle présente est calculée par l'algorithme Mascot Matrix Science et donnée sous forme de score Mascot. La protéine incriminée est considérée comme identifiée à partir d'un score seuil de 30, on dit alors que le score est significatif. Une seconde fragmentation d'un peptide du spectre MS, (MS tandem ou MS^2) spécifique de la protéine (ici le pic 1960 Da), permet de valider la bonne composition du peptide et apporte une ultime preuve de la présence de ce peptide.

Une analyse automatique avec le module FlexImaging permet de cartographier la surface en répétant l'analyse de proche en proche sur la surface. Les paramètres de tirs sont conservés d'un échantillon à l'autre et les analyses sont réalisées en même temps afin d'établir un comparatif entre les différentes surfaces. Bien que la surface complète de l'échantillon soit analysée, nous comparerons des surfaces de 2mm de côté composées de 17 par 17 mesures. Le résultat de cette analyse est donc l'intensité $I(x, y, z)$ de chaque valeur m/z du spectre (z), à chaque position (x, y). La matrice résultat est donc de dimension $x*y*z$, difficile à représenter. Après récupération de ces données, nous utilisons un programme spécialement conçu pour présenter la réponse en intensité de la répartition d'un seul peptide sur la surface. Nous montrerons ici les résultats pour le pic 1960 Da ($I(x, y, 1960 \text{ Da})$).

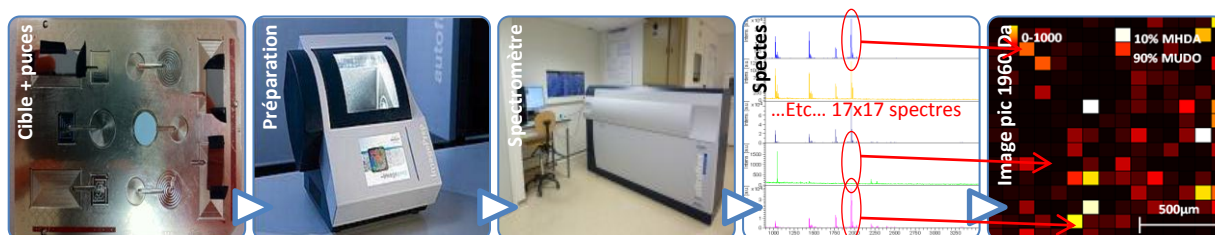


Figure 4.13 - Processus d'analyse automatique par spectrométrie de masse des échantillons de GaAs

4.3 Caractérisations de la surface d'arséniure de gallium fonctionnalisée

Que ce soit :

- au niveau du taux de couverture, permettant la réalisation d'une barrière physique avec la surface,

- au niveau de la fixation protéique, assurée d'une part par la chimisorption du groupement thiol sur la surface et, d'autre part, par la modification du groupement carboxyle assurant la fixation covalente de la protéine,
- au niveau de la maîtrise de la couverture protéique, assurée par le contrôle du nombre de sites d'accroche, lié au ratio de MHDA présents en solution,

La connaissance de la composition et de l'organisation de notre interface chimique est essentielle pour envisager de réaliser une biointerface sélective, sensible et performante. La caractérisation de cette interface est donc essentielle afin de mieux comprendre son organisation, sa composition, son homogénéité sur ce matériau. Nous avons donc procédé à une caractérisation multi échelle systématique de la surface par mesures de tension de surface, d'ellipsométrie, de spectroscopie photoélectronique à rayons X (XPS), imagerie via microscopie à force atomique (AFM) qui nous apportent la preuve de la bonne fonctionnalisation de la surface.

4.3.1 Tension de surface

La mesure par angle de contact, ou mesure de tension de surface, nous informe sur la modification de mouillabilité, c'est-à-dire la variation des propriétés hydrophobe / hydrophile de la surface.

| <i>Surface GaAs</i> | | | | | |
|---------------------|-----|------|------|------|---------|
| | Nu | ODT | MHDA | MUDO | 3% MHDA |
| Angle de contact | 68° | 112° | 90° | 45° | 76° |

Tableau 4.4 - Angles de contact mesurés sur substrats GaAs nu et fonctionnalisés ODT, MHDA, MUDO et 3% MHDA

Alors que le substrat nettoyé et désoxydé présente un angle de contact de 68°, la surface fonctionnalisée par une couche d'ODT montre un comportement très hydrophobe avec un angle mesuré de 112°. Le caractère hydrophobe de la surface provient à la fois des longues chaînes carbonées de cette monocouche ainsi que de son groupement alkyl terminal. Cette valeur est aussi obtenue par McGuiness et al. [51], ce qui nous donne une première confirmation de l'existence d'une monocouche dense et ordonnée en surface, et valide notre procédé de fonctionnalisation.

En appliquant cette mesure à notre interface mixte 3% MHDA, l'angle obtenu est de 76° ce qui correspond à une valeur comprise entre un substrat fonctionnalisé uniquement avec du MUDO, très hydrophile (45°), et uniquement par du MHDA (90°). Cette valeur correspond donc bien à la présence des deux types de molécules sur la surface et non d'un seul. Le comportement du MUDO, dû au groupement hydroxyle terminal, était attendu mais la valeur de la surface fonctionnalisée 100% MHDA est plus surprenante, le groupement terminal carboxyle étant hydrophile. La combinaison des différents paramètres, que sont la proximité de longues chaînes carbonées hydrophobes, de groupement terminaux hydrophiles ainsi que l'inclinaison prononcée de ce type de couche sur la surface [55], peut expliquer cette valeur intermédiaire de tension de surface pour la fonctionnalisation 100% MHDA.

4.3.2 Mesure de l'épaisseur par ellipsométrie

L'ellipsométrie caractérise le changement d'état de polarisation de la lumière après réflexion à incidence non normale sur la surface. Grâce au spectre obtenu (mesure absolue), nous pouvons déterminer les paramètres (épaisseur et indice de réfraction) des couches constitutives de notre échantillon par comparaison à un modèle que l'on détermine initialement. Il est donc nécessaire de bien connaître l'échantillon que nous souhaitons caractériser afin de faire varier uniquement quelques paramètres pour faire « correspondre » notre modèle à la courbe obtenue expérimentalement.

Nous caractériserons ici uniquement une couche d'ODT, les indices de réfraction de cette couche et du GaAs étant données dans la littérature (ODT : $n=1.46$, $k=0$ et GaAs : $n=3.821$, $k=0.354$) d'après [25, 69, 70]. D'après les mêmes auteurs, une épaisseur de couche de 11Å est aussi annoncée, correspondant à une inclinaison des molécules d'une valeur de 60°, et est comparée à celle obtenue sur un substrat d'or, et qui est de 22Å avec une inclinaison des molécules de 30°. Cependant, la constitution de ce premier modèle n'a pas permis d'obtenir des résultats satisfaisants. Les indices réfractifs de la couche d'ODT ont alors été optimisés par mesure sur un substrat d'or, couche très étudiée et dont les paramètres sont bien maîtrisés sur ce substrat d'or. Les paramètres utilisés pour modéliser le substrat ont aussi été modifiés et déterminés par mesure sur le substrat de GaAs nettoyé et désoxydé.

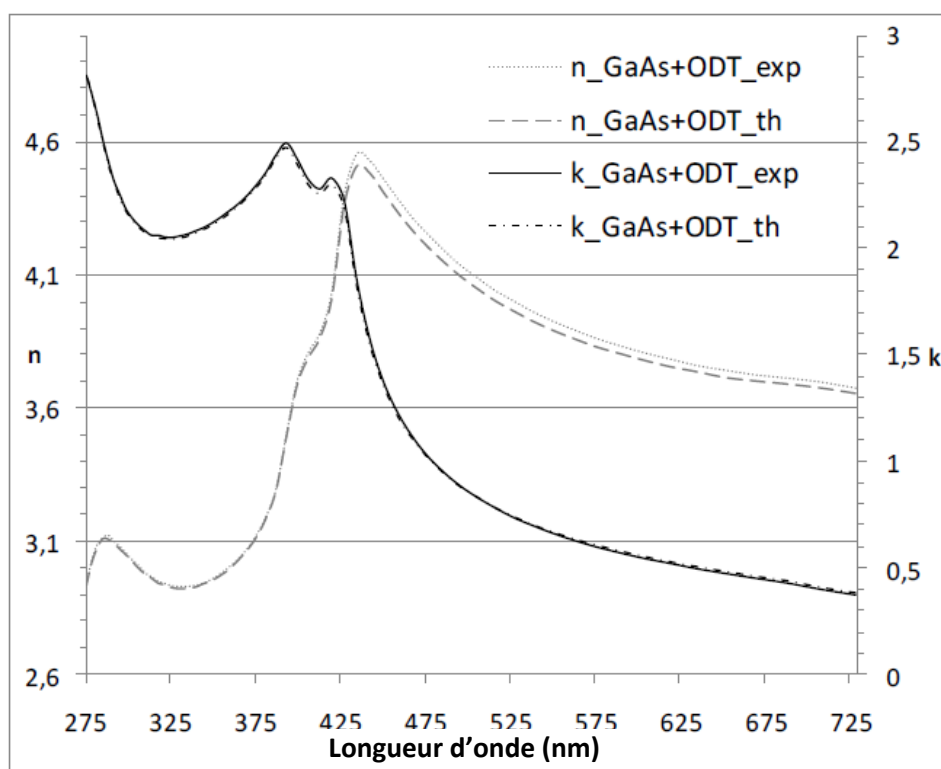


Figure 4.14 - Evolution théorique (th) et expérimentale (exp) de l'indice réfractif complexe (indice réfractif n et coefficient d'extinction k) en fonction de la longueur d'onde d'une monocouche d'ODT autoassemblée sur un substrat GaAs (100)

Les indices réfractifs et les paramètres du substrat fixés, la courbe théorique est ajustée à la courbe expérimentale en faisant varier l'épaisseur de la monocouche d'ODT. Une épaisseur de 9Å est obtenue. Cette valeur est proche de celle trouvée lors de précédentes études [71, 72] avec les mêmes méthodes de caractérisation. Cependant, d'autres publications [24, 30] montrent grâce à des études XPS haute résolution que cette épaisseur est plus proche de 23Å, correspondant à une inclinaison de 14° et une rotation de 43° de la molécule [24, 30].

L'épaisseur mesurée, de 9Å pour une couche d'ODT sur GaAs, est tout de même en adéquation avec l'épaisseur d'un film moléculaire, de l'ordre de 1nm, ce qui élimine l'hypothèse d'une couche hétérogène et multifeuillets de molécules de thiols et confirme la bonne chimisorption et organisation de cette monocouche sur un substrat GaAs (100).

4.3.3 Composition atomique de l'interface chimique

La mesure par spectroscopie photoélectronique de rayons X nous donne de plus amples renseignements sur la composition atomique de la monocouche. Le spectre énergétique obtenu est comparé à un spectre modèle où chaque énergie de liaison est introduite. L'aire de ce pic centré sur l'énergie de liaison correspond à la quantité de cette liaison dans la composition surfacique. Les mesures sont réalisées sur substrat nu, fonctionnalisé ODT ou 3% MHDA.

4.3.3.1 Spectre Ga3s

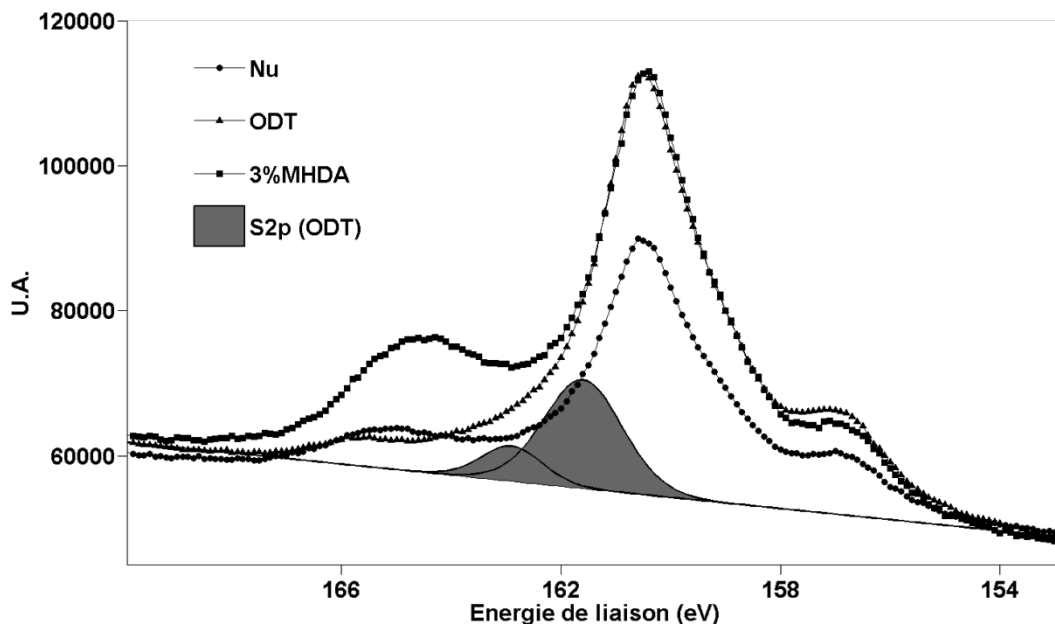


Figure 4.15 - Spectre Ga3s obtenu sur substrat GaAs (100) nu, fonctionnalisé ODT et 3% MHDA

Sur le substrat nu, le pic Ga3s (160.5 eV) domine les différentes contributions, mais deux contributions plasmons As3p sont nécessaires pour obtenir une bonne déconvolution [51]. Une contribution d'un oxyde natif est aussi visible à de plus haute énergie, autour des 165 eV. Après

fonctionnalisation de la surface par une monocouche d'ODT, l'intensité du pic d'oxyde natif diminue, ce qui se traduit par une passivation de la surface par les molécules, réduisant l'oxydation native de la surface. Si nous regardons le même pic pour une monocouche constituée de 3% MHDA, nous observons une augmentation de l'intensité de ce pic, au moins trois fois plus forte que pour une surface fonctionnalisée par l'ODT. Cette observation est en accord avec la présence d'atomes d'oxygène, portés à la fois par les groupements carboxyle et hydroxyle des molécules de MHDA et de MUDO liées à la surface de GaAs.

Pour les spectres des surfaces fonctionnalisées, la contribution supplémentaire entre 160 et 164 eV peut être attribuée à des espèces S2p résultant d'espèces thiolées présentes en surface [24, 73], ce qui est en accord avec la création de liaisons entre le soufre du thiol et les atomes Ga et As du substrat. Un doublet S2p, représenté par deux pics à 161.6 eV et 162.9 eV, est caractéristique des molécules thiolées et confirme la fixation covalente des thiols sur la surface. De plus, l'aire sous pic des doublets S2p est équivalente pour une surface fonctionnalisée ODT ou 3% MHDA, avec respectivement 34096 CPS.eV et 34983 CPS.eV (Figure 4.18). Cette similitude atteste que la quantité de thiols est à peu près identique entre les deux surfaces, c'est-à-dire que le taux de couverture en thiols de la surface est proche. Cette quantité fixe de soufre sur la surface renforce l'idée d'un greffage moléculaire conduisant à la formation d'une monocouche organisée de thiols à la surface du substrat.

4.3.3.2 Spectre C1s

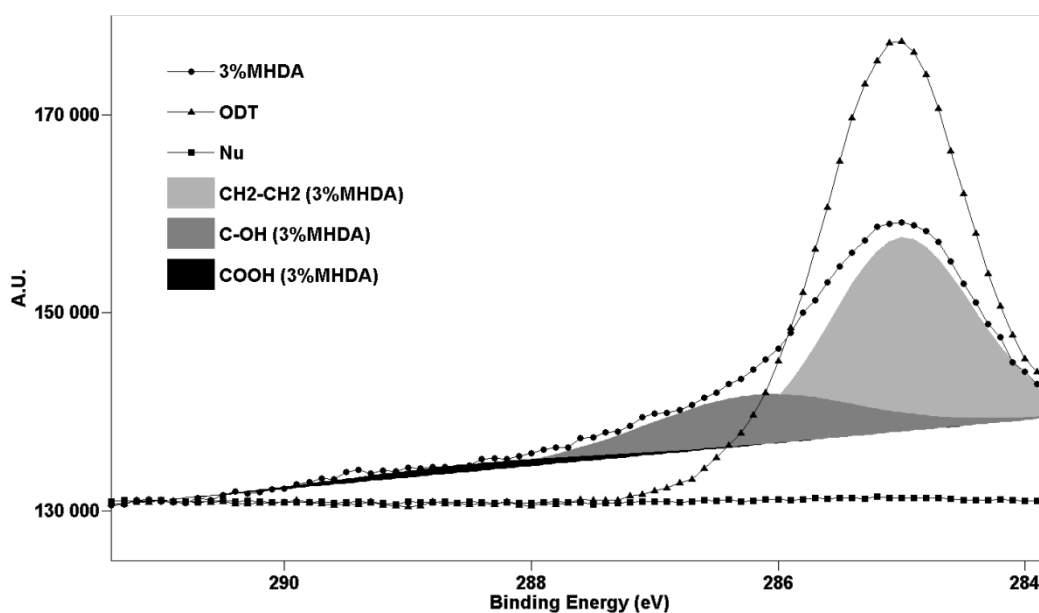


Figure 4.16 - Spectres C1s obtenus sur substrat GaAs (100) nu, fonctionnalisé ODT et 3% MHDA

Le pic C1s est négligeable sur la surface brute, ce qui indique que la contamination par le carbone à l'air ambiant est très faible. Après fonctionnalisation de la surface, l'intensité du pic C1s augmente fortement. La surface fonctionnalisée ODT exhibe un seul pic prononcé, avec une énergie de liaison

de 285eV, qui est une valeur cohérente comprise entre celles observées pour l'ODT sur or (284.95eV) ou sur argent (285.26eV). Le pic C1s est différent pour la couche 3% MHDA. L'intensité du pic est moins prononcée que celle de la couche d'ODT (42047 CPS.eV pour 3% MHDA contre 58565 CPS.eV pour l'ODT) ce qui s'explique par la chaîne carbonée plus longue de l'ODT (18 carbones) comparativement à celle du MHDA ou du MUDO constituée respectivement de 16 et 11 carbones. Nous pouvons par ailleurs expliquer cette différence en regardant le nombre de carbones aliphatiques (-C-C-) contenu dans les couches. Pour la couche 3% MHDA, si on considère uniquement les molécules de MUDO (on néglige les 3% MHDA), chaque molécule constitutive de la couche contient 10 carbones aliphatiques. La couche d'ODT contient elle 18 carbones aliphatiques. Nous pouvons alors comparer le ratio obtenu $10/18=0.55$ au ratio de l'aire sous le pic principal C1s (285eV). Le ratio de cette aire sous pic est de $28769/58765$ (Figure 4.16), soit 0.49 ce qui est du même ordre de grandeur que le précédent ratio déterminé par le nombre de carbones aliphatiques contenus dans la couche. L'intensité du pic principal du spectre C1s nous conforte donc sur la composition des molécules immobilisées sur la surface de GaAs.

Pour la couche 3% MHDA, toujours par comparaison avec la couche ODT, nos mesures révèlent aussi la présence de nouvelles contributions de plus haute énergie, certainement induites par la présence des groupements hydroxyle et carboxyle des molécules MUDO et MHDA. Effectivement, deux pics supplémentaires d'aires différentes apparaissent à 286.2 eV et 288.5 eV, ce qui correspond respectivement aux groupements hydroxyle (C-OH) du MUDO et carboxyle (C-COOH) du MHDA [⁷⁴, ⁷⁵]. Du fait de la faible résolution de notre appareillage XPS et du faible pourcentage de MHDA dans la monocouche, la discussion sur le ratio C-COOH / C-OH déduit du spectre n'a pas de sens. Nous déduisons ici que de nouvelles contributions apparaissent dans le spectre C1s après fonctionnalisation avec 3% MHDA, ce qui est en adéquation avec la fixation de thiols contenant des groupements fonctionnels incluant des liaisons entre atomes de carbone et d'oxygène.

4.3.3.3 Spectre O1s

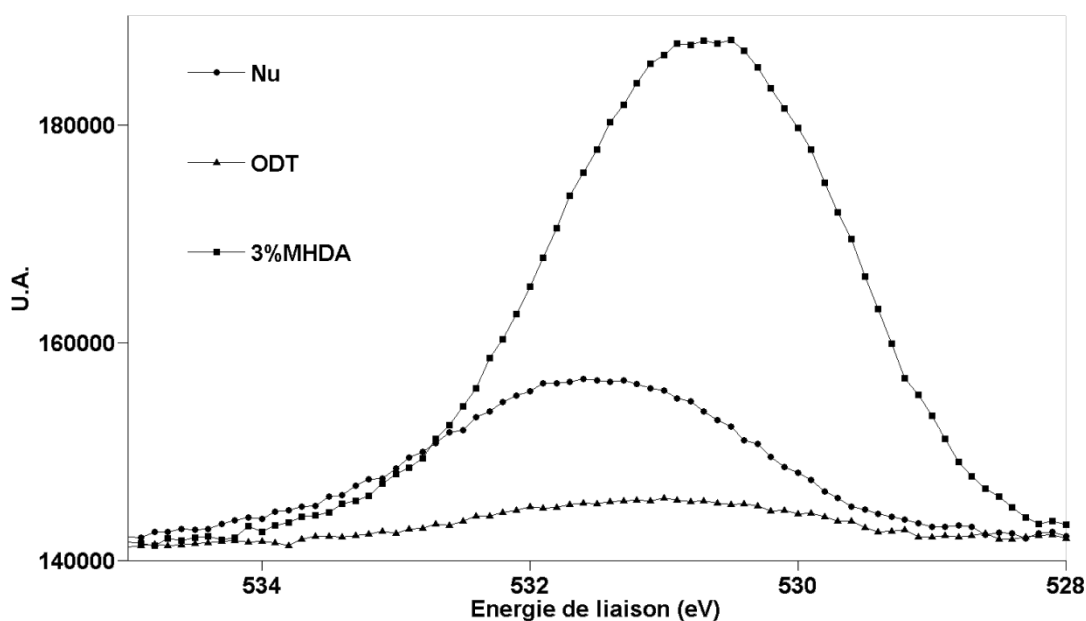


Figure 4-17 - Spectres O1s obtenus sur substrat GaAs (100) nu, fonctionnalisé ODT et 3% MHDA

Sur la surface brute, le spectre de l'oxygène présente un pic important à 532eV, traduisant une oxydation native rapide de la surface de GaAs (exposition inférieure à 1min à l'air ambiant). Après fonctionnalisation par une monocouche d'ODT, le signal du pic O1s diminue fortement et décale de plus d'un eV vers de plus basse énergie, prouvant la réduction d'oxyde natif en surface et la présence de diverses espèces contenant des atomes d'oxygène. Ces résultats sont en accord avec la littérature où la couche d'ODT est décrite comme une couche permettant la passivation de la surface et limitant l'oxydation du substrat.^[28]

La présence de groupements fonctionnels hydrophiles portés par les molécules de MUDO et MHDA, contenant toutes deux des atomes d'oxygènes, induit une augmentation du pic d'oxygène à un niveau au moins 9 fois supérieur au pic observé sur la couche d'ODT. Les différences de quantité d'atome d'oxygène entre les trois surfaces sont visibles dans l'histogramme ci-dessous.

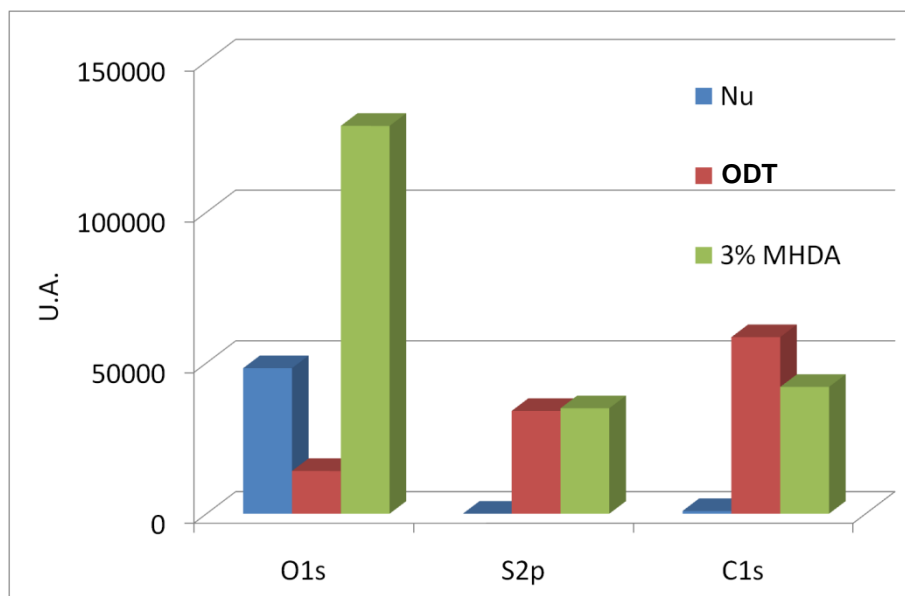


Figure 4.18 – Analyses semi-quantitative de la quantité d'oxygène, de soufre et de carbone par estimation de l'aire sous pics (CPS.eV) des courbes XPS correspondantes aux différentes surfaces native et fonctionnalisées.

4.3.4 Topographie, homogénéité et rugosité de la couche fonctionnalisée

Les mesures par microscopie à force atomique vont nous permettre d'imager la topographie de surface et de vérifier la bonne organisation de la couche de thiols. De plus, elles serviront de référence par la suite pour observer la modification topographique induite par le greffage de protéines à la surface de l'arséniure de gallium fonctionnalisé. Un contrôle supplémentaire de l'épaisseur de la monocouche greffée est aussi effectué sur une interface constituée de 10% MHDA.

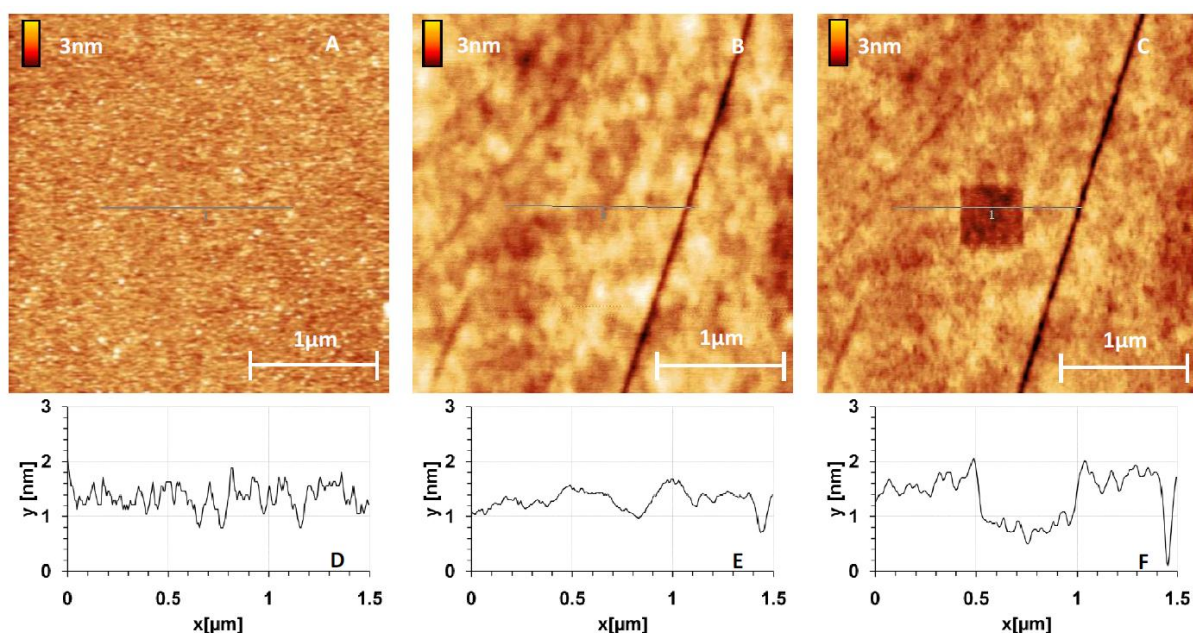


Figure 4.19 - Images AFM de la surface GaAs avant (A) et après (B,C) fonctionnalisation par une couche 10% MHDA et leurs sections respectives (D,E,F). L'image C et sa section respective F représentent le retrait de la couche de thiols après avoir appliqué une force importante entre la pointe et l'échantillon.

La Figure 4.19 A montre la configuration topographique initiale de la surface du wafer GaAs (100). Les Figure 4.19 B et Figure 4.19 C correspondent à la même surface mais fonctionnalisée par une couche 10% MHDA. La Figure 4.19 C se différencie de la Figure 4.19 B par la présence d'une zone « grattée » où l'interface de molécule thiolée a été retirée du fait d'une force importante appliquée entre la pointe et le substrat (cf. section 4.2.3.2). Les images du substrat nu et fonctionnalisé mettent en avant une structuration de surface très peu prononcée (zrange 3 nm) hormis les quelques sillons induit par le polissage mécanique, correspondant à l'obtention d'une surface de haute qualité très lisse similaire à celle présentée dans d'autres publications [4, 13, 40, 63, 69]. La surface fonctionnalisée 10% MHDA montre une couche dense et homogène. Les profils correspondants (Figure 4.19 D et Figure 4.19 E) montrent que les microporosités initiales ont été « remplies » par les molécules thiolées ce qui est confirmé par la diminution des paramètres de rugosité de la surface, les valeurs Ra et Rms passant de $Ra = 0.23 \text{ nm}$ / $Rms = 0.32 \text{ nm}$ pour une surface nue à $Ra = 0.18 \text{ nm}$ / $Rms = 0.23 \text{ nm}$ pour une surface chimiquement modifiée 10% MHDA. Pour mesurer l'épaisseur de cette couche, nous réalisons un trou carré de 500 nm de côté en arrachant localement la couche par application d'une force importante entre la pointe et la surface (Figure 4.19 C). La section Figure 4.19 F de ce trou met en évidence l'arrachement de la couche et une épaisseur d'approximativement 1 nm est mesurée. Cette valeur est similaire à celle trouvée par Zhou et Walker [76] : 1.7 nm pour une couche de MHDA et 1.4 nm pour une couche de MUA (un thiol composé d'une chaîne de 11 carbones mais avec un groupement fonctionnel terminal carboxyle). Cette caractérisation AFM démontre la bonne organisation d'une monocouche auto-assemblée composée de thiols mixtes.

Par diverses techniques de caractérisation, nous avons pu montrer les propriétés surfaciques (angle de contact), l'épaisseur (ellipsométrie, AFM), la composition (XPS) et la répartition homogène (AFM) de notre interface chimique mixte sur la surface de GaAs. Nous allons par la suite nous intéresser au greffage protéique sur cette interface.

4.4 Greffage protéique sur la surface de GaAs fonctionnalisée – Influence de l'interface chimique sur le greffage

4.4.1 Modifications topographiques

On applique à l'échantillon précédent, fonctionnalisé par une monocouche 10% MHDA, le protocole de greffage protéique énoncé au paragraphe 4.2.2.2. La RSA est alors fixée de manière covalente au groupement carboxyle activé de l'interface chimique. Par imagerie AFM, nous allons observer les modifications topographiques induites par ces modifications faites à la surface. Le comparatif de ces deux images est donné dans la Figure 4.20.

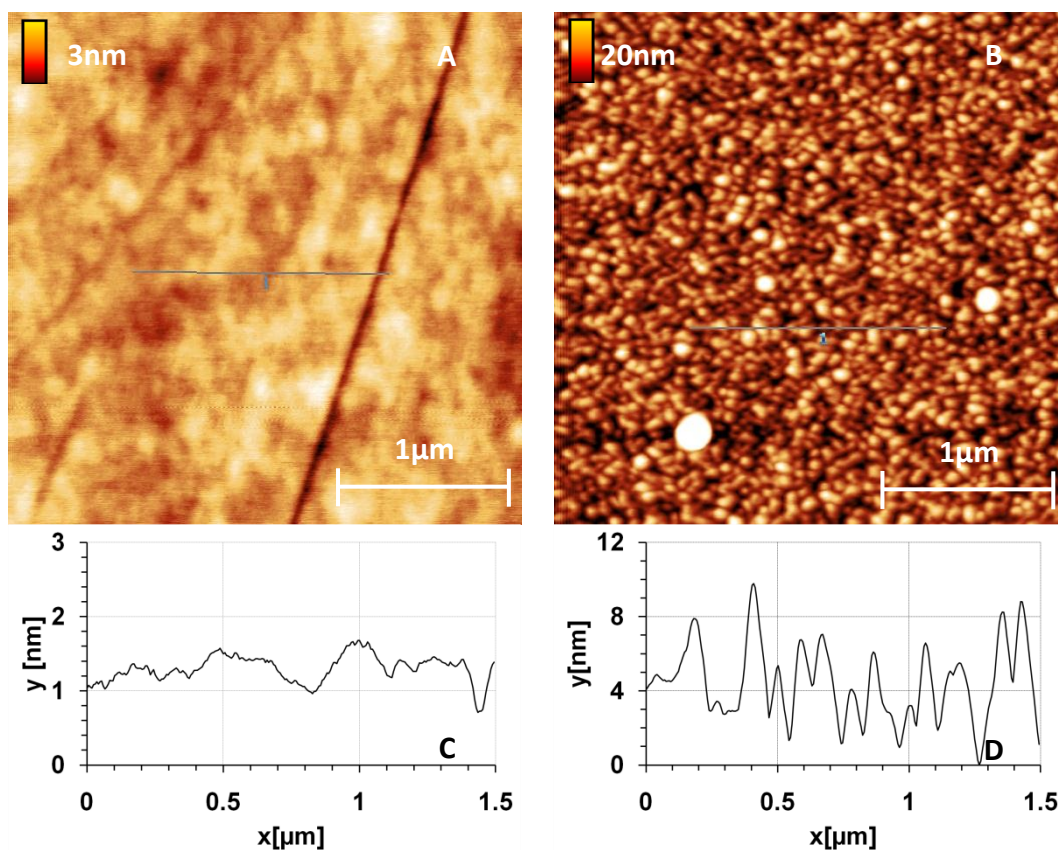


Figure 4.20 - Comparatif des surfaces de GaAs fonctionnalisées par une monocouche 10% MHDA avant (A, C) et après (B, D) greffage protéique

Après greffage protéique sur la surface fonctionnalisée, la topographie de surface est complètement modifiée. La visualisation de la surface nécessite une adaptation de l'échelle en hauteur, passant de 3 nm à 20 nm. Les profils présentés Figure 4.20 C et D ont aussi des échelles de hauteur différentes, montrant le bouleversement topographique à la surface de l'échantillon. La surface chimiquement fonctionnalisée précédemment décrite comme très plane avec des rugosités $R_a = 0.18$ nm (Rugosité

moyenne arithmétique) et Rms = 0.24 nm (rugosité moyenne quadratique) est complètement transformée. La surface devient en effet très rugueuse, les paramètres de rugosité Ra et Rms sont alors respectivement 1.9 nm et 2.63 nm comme illustré dans la Figure 4.21.

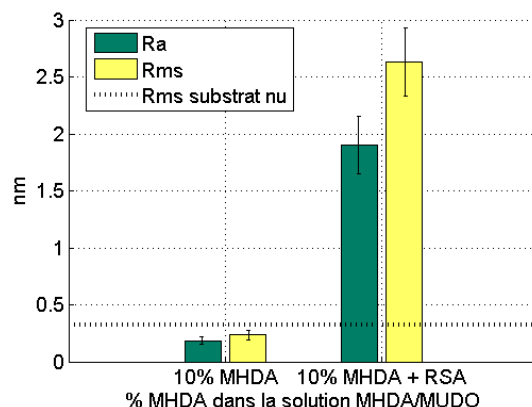


Figure 4.21 - Rugosité mesurée sur les deux échantillons de GaAs fonctionnalisés 10% MHDA avant et après le greffage de RSA

Les motifs sont homogènes sur la surface, présentant des formes granuleuses. Ces formes granuleuses, en tenant compte du filtrage mécanique induit par la pointe, ont une taille comprise entre 5 et 15 nm ce qui est bien en adéquation avec les dimensions d'une protéine de RSA [77]. Ces dimensions nous confortent dans l'idée que nous avons bien immobilisé la RSA sur la monocouche de thiols.

4.4.2 Greffage protéique sur différentes interfaces chimiques

Afin de valider le comportement espéré de notre couche, c'est-à-dire :

- obtenir un greffage covalent des protéines via les groupements carboxyles du MHDA,
- limiter l'adsorption non-spécifique des protéines grâce aux groupements hydroxyles du MUDO,
- mettre en évidence la différence d'organisation du tapis protéique sur des surfaces fonctionnalisées avec des interfaces chimiques différentes,

Nous avons imagé la couverture protéique obtenue sur différentes surfaces avec et sans interface chimique. Les deux premières images montrent les modifications topographiques sur substrat nu avant et après dépôt protéique (Figure 4.22 A et B). L'image suivante, Figure 4.22 C, est le résultat obtenu sur une surface fonctionnalisée 100% MUDO. La Figure 4.22 D présente au contraire une surface couverte de MHDA, exposant un maximum de site d'accroche pour la protéine. Les Figure 4.22 E et F sont deux interfaces mixtes, 3 % et 10 % respectivement, dont la concentration en MHDA semble appropriée à la fixation d'une monocouche protéique dense. Comme énoncé précédemment,

les images sont réalisées dans les mêmes conditions, avec la même pointe, et sur un substrat identique.

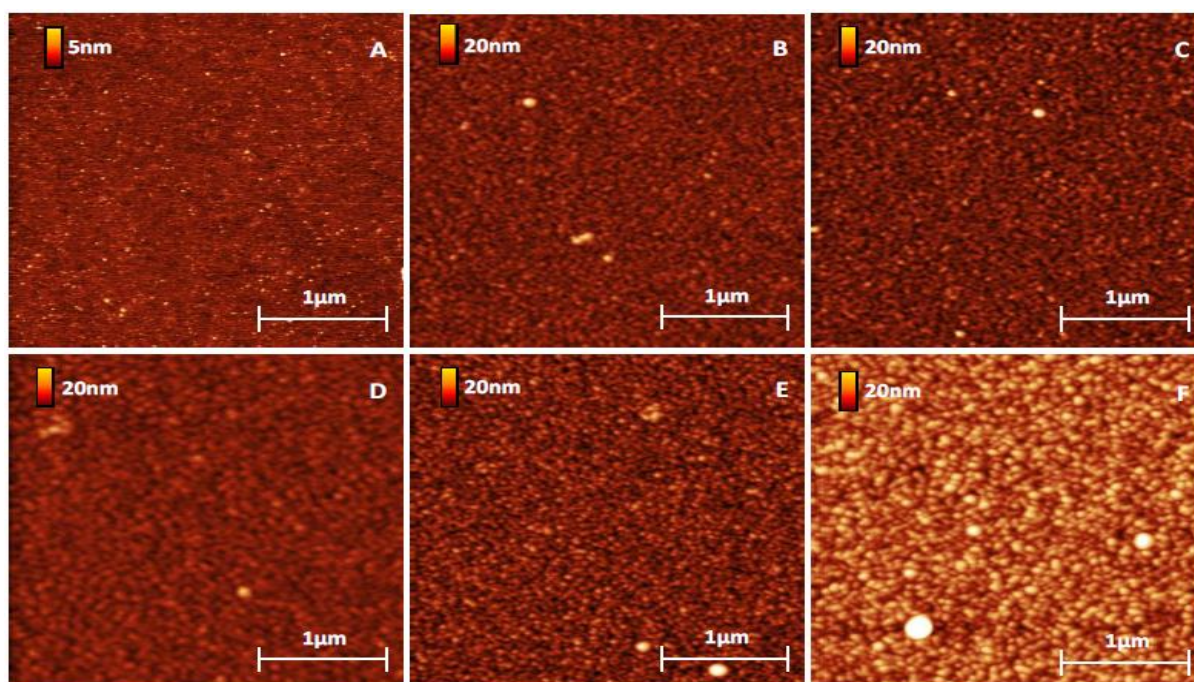


Figure 4.22 - Surfaces de GaAs avant (A) et après protocole de greffage protéique pour différentes interfaces : non fonctionnalisée (B), 0% MHDA (C), 100% MHDA (D), 3% MHDA (E) et 10% MHDA (F).

Comparativement à la surface de référence (Figure 4.22 A), nous observons sans ambiguïté une modification de la surface de GaAs après le protocole de greffage de la RSA sur les différentes surfaces modifiées chimiquement. La surface initialement très plane (échelle en Z 5nm) est modifiée et la rugosité augmente fortement après cette étape (échelle en Z de 20nm pour tous les autres échantillons). La Figure 4.23 donne les valeurs des paramètres de rugosité Ra et Rms en fonction du pourcentage de MHDA dans la couche MHDA/ MUODO. Le substrat non fonctionnalisé (Figure 4.22 B) et celui ne comportant pas de MHDA (Figure 4.22 C) ont le même comportement, présentant des particules éparses et de petites dimensions (quelques nanomètres). Ces motifs sont probablement des protéines ou des agrégats de protéines absorbées sur la surface malgré le rinçage au détergent. La substitution de quelques molécules de MUODO par d'autres de MHDA induit un changement de la topographie et de plus amples motifs (environ 40 nm) sont observés dans ces cas. L'échantillon 10% MHDA montre une forte rugosité de surface comparativement aux autres (Rms = 2.63 nm) et les protéines greffées forment une couche dense sur la surface de GaAs. La couche 3% MHDA présente une valeur de rugosité Rms intermédiaire. La surface couverte uniquement de MHDA montre la plus faible rugosité. Dans ce dernier cas, nous pensons que la présence surnuméraire de sites d'ancrage induit un multi-pontage de la protéine par plusieurs points d'accroche. Ces multiples liaisons entre la protéine et la surface tendent certainement à aplanir les protéines sur la surface, ce qui induit une forte diminution de la rugosité de la surface (Rms = 0.98 nm).

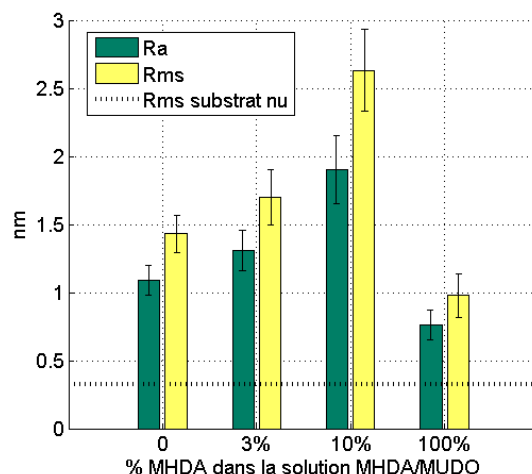


Figure 4.23 - Rugosité de la surface de GaAs après incubation protéique sur différentes interfaces chimiques MHDA/MUDO

Une interprétation possible de ces valeurs de rugosité est probablement le nombre différent de sites d'accroche offerts par ces différentes couches. En effet, si nous supposons qu'une protéine a un diamètre de 5 nm, une monocouche protéique complète et saturée donne une couverture aux alentours de 50 000 protéines par μm^2 . La densité d'une couche de thiols est approximativement de $5 \cdot 10^6$ molécules par μm^2 , du fait que la surface occupée par une molécule de thiol est d'environ 20 \AA^2 [30, 50] sur une surface de GaAs (100). Le ratio surfacique entre les thiols et les protéines est alors approximativement de 100 thiols pour une protéine. Théoriquement, avec cette information complémentaire, les monocouches auto-assemblées composées de 3, 10 et 100% MHDA peuvent offrir respectivement 3, 10 et 100 sites d'accroche par protéine. Si nous considérons que les molécules de MHDA sont non uniformément distribuées et qu'une partie seulement des groupements carboxyles ne réagit (seulement 10% de sites d'accroches sont activés pour Ding et al. [64]), nous pouvons supposer que la monocouche auto-assemblée contient un nombre insuffisant de sites d'accroche si elle est composée de 3% de MHDA, un excès de sites d'accroche pour 100% de MHDA et un bon compromis pour 10% de MHDA. En se fiant aux images AFM, la couche 10% MHDA semble avoir le ratio idéal de sites d'accroche pour immobiliser suffisamment de protéines pour créer une couche protéique dense. De manière similaire à nos images AFM de protéine RSA immobilisée sur la couche 10% MHDA, Duplan et al. [40] montre des images AFM de neutravidine (protéine proche de la RSA en taille, avec un poids moléculaire de 60 000 Da contre 64 500 Da pour la RSA) immobilisée sur une surface GaAs modifiée par une couche mixte de thiol à chaîne polyéthylène glycol et confirme la possibilité de former une couche protéique organisée et dense à la surface de GaAs. Les auteurs utilisent un ratio de 1/15 (6.66%) de sites d'accroche biotinylés distribués dans une couche de PEG terminée d'un groupement hydroxyle.

4.4.3 Liaison protéine-surface : liaison covalente ou physisorption ?

La Figure 4.22 montre des modifications surfaciques après l'étape de greffage protéique, bien que la surface de GaAs nue ou fonctionnalisée 0% MHDA ne présente pas de groupement chimique capable de fixer ses entités. Pour mettre en évidence les différentes liaisons existant entre la protéine et

chacune des surfaces chimiquement modifiées, nous souhaitons arracher localement les couches protéiques et de thiols en appliquant avec l'AFM une force importante et contrôlée entre la pointe et la surface de l'échantillon. Comme expliqué au paragraphe 4.2.3, différentes pointes sont utilisées pour appliquer des efforts, de modérés à forts, afin d'assurer ou non l'arrachement des couches. La force appliquée sur l'échantillon est ajustée en faisant varier la consigne de déformation du levier et les mêmes paramètres sont conservés d'un échantillon à l'autre pour établir un comparatif entre les surfaces. Une première série de mesures est réalisée en appliquant une force modérée sur la surface en déformant au maximum une pointe moyennement rigide (NPS10-B, $k = 0.12 \text{ N/m}$) sur une zone carrée de 500 nm de côté. Les résultats sont reportés Figure 4.24.

D'un côté, nous observons que la surface 0% MHDA (Figure 4.24 B) et le substrat nu (Figure 4.24 A) ont un comportement typique de physisorption lors de l'incubation avec la solution protéique. Sur les images AFM réalisées sur surface nue, la marche entre la couche protéique et le substrat est pratiquement invisible et les bourrelets de matières repoussés sur les bords de la zone grattée sont très petits. La surface nue de GaAs ne semble pas avoir adsorbée beaucoup de protéines RSA. Les faces de l'arséniure de gallium sont relativement peu couvertes après incubation, l'adsorption protéique est donc faible dans ce cas. Ce résultat montre l'efficacité du rinçage à l'OG qui permet de retirer les protéines simplement déposées à la surface. Ces résultats sont en accord avec ceux observés par Ding et al. [64]. Sur la surface de GaAs fonctionnalisée uniquement par du MUDO, les protéines déposées sont facilement retirées par ce test et un trou carrée de 500 nm de côté apparaît d'une profondeur de 3.5 nm. Sur les bords de ce carré, nous observons des amas de matière correspondant certainement à un tas protéique déplacé par la pointe. Les amas visibles prouvent la présence de protéines sur la surface fonctionnalisée MUDO, mais seulement adsorbée sur la surface car pouvant être facilement retirées en grattant modérément la surface.

Au contraire, la surface composée uniquement de molécules de MHDA ne semble pas affectée par ce test. Dans la zone grattée, la surface semble compactée et les molécules apparaissent étirées sur la surface mais toujours présentes à l'endroit où la force importante a été appliquée par la pointe sur la surface. Ce résultat tend à prouver que les protéines sont fermement accrochées à la surface de GaAs, puisque la conséquence de ce grattage se limite à un étalement visible (mais sans arrachement) de molécules.

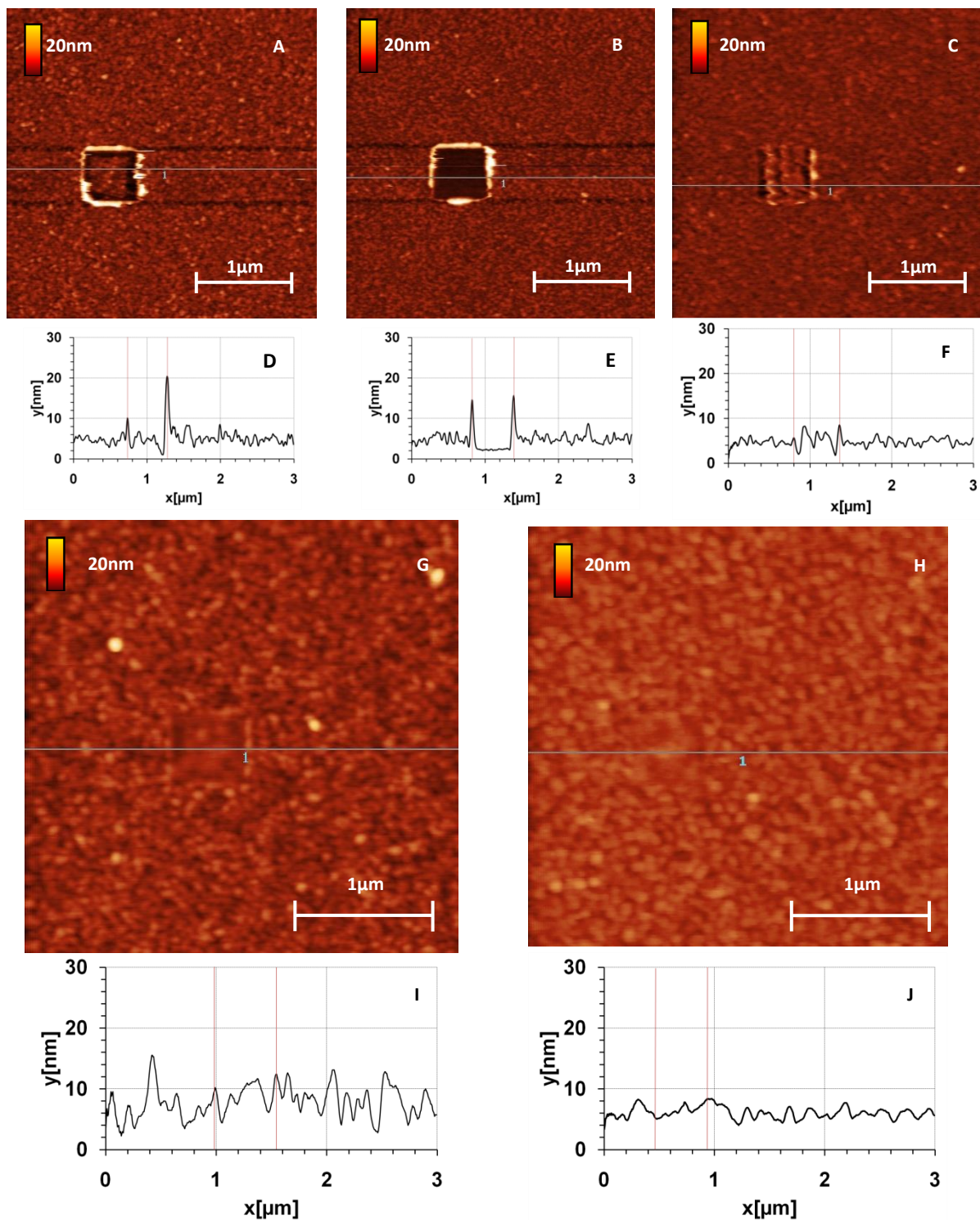


Figure 4.24 - Images AFM des surfaces de GaAs nue et biofonctionnalisées après le protocole de fixation sur une zone grattée à force modérée (pointe de rigidité $k=0.12\text{N/m}$) et leurs sections respectives : nue (A, D), 0% MHDA (B,E), 100% MHDA (C,F), mixte 10% MHDA (G,I) et 3% MHDA (H,J).

La surface mixte contenant 10% MHDA a un comportement similaire à celle 100% MHDA : la surface dans la zone grattée apparaît légèrement modifiée mais les molécules restent fixées sur la surface après l'application d'une force modérée. Étonnamment, seulement 3% de MHDA (Figure 4.24 H) semble donc suffisant pour basculer vers une couche protéique fortement immobilisée. Ce résultat

met en évidence le lien covalent existant entre la surface couverte de thiols et la couche protéique lorsque des molécules de MHDA sont présentes dans l'interface chimique.

Sur la section Figure 4.24 E, correspondant à la surface 0% MHDA, nous observons la hauteur des bourrelets induits par le grattage. Cette hauteur importante (10 à 15 nm) met en évidence le retrait conséquent de matière de la zone grattée. Dans le fond du trou de 500 nm de côté, nous voyons une surface très plane correspondant au substrat GaAs et nous mesurons une couche protéique d'une épaisseur de 3.5 nm (voir explication ci-dessous lors du grattage fort et Figure 4.27).

L'adsorption protéique sur l'interface 0% MHDA est surprenante du fait que le groupement hydroxyle des molécules de MUDO est connu pour limiter les interactions non spécifiques, comparativement aux autres groupements terminaux, et que l'efficacité du rinçage OG a pu être montrée du fait du retrait quasi complet de protéines sur le substrat non fonctionnalisé. Des articles récents [25, 26, 30, 55] nous donnent une explication possible de ce phénomène. La longueur de la chaîne de MUDO, composé de 11 atomes de carbone, est relativement courte et ne permet pas un auto-assemblage très organisé pour lequel des chaînes de longueur de 15 ou 16 atomes de carbone sont requises. Cette désorganisation dans la couche de MUDO peut introduire des « porosités » dans la couche chimique dans laquelle les chaînes aliphatiques de thiols peuvent interagir avec les protéines par des interactions hydrophobes. L'addition de molécules de MHDA (composé de 16 atomes de carbone), pendant le processus de fonctionnalisation, semble favoriser la formation d'une couche protéique dense car aucun retrait de matière n'a lieu sur les surfaces mixtes et 100% MHDA comme nous pouvons le voir sur les photos Figure 4.24 C, G et H.

4.4.4 Epaisseur des couches protéiques et thiolées

Un grattage plus important est réalisé pour retirer complètement la couche protéique et l'interface chimique thiolée. Pour cela, nous utiliserons cette fois une pointe rigide (NPS10-A, $k=0.58\text{N/m}$) et une zone carrée de 1 μm est grattée. La force appliquée sur la surface est beaucoup plus importante avec cette approche. Les images et leurs sections correspondantes sont présentées dans la Figure 4.25.

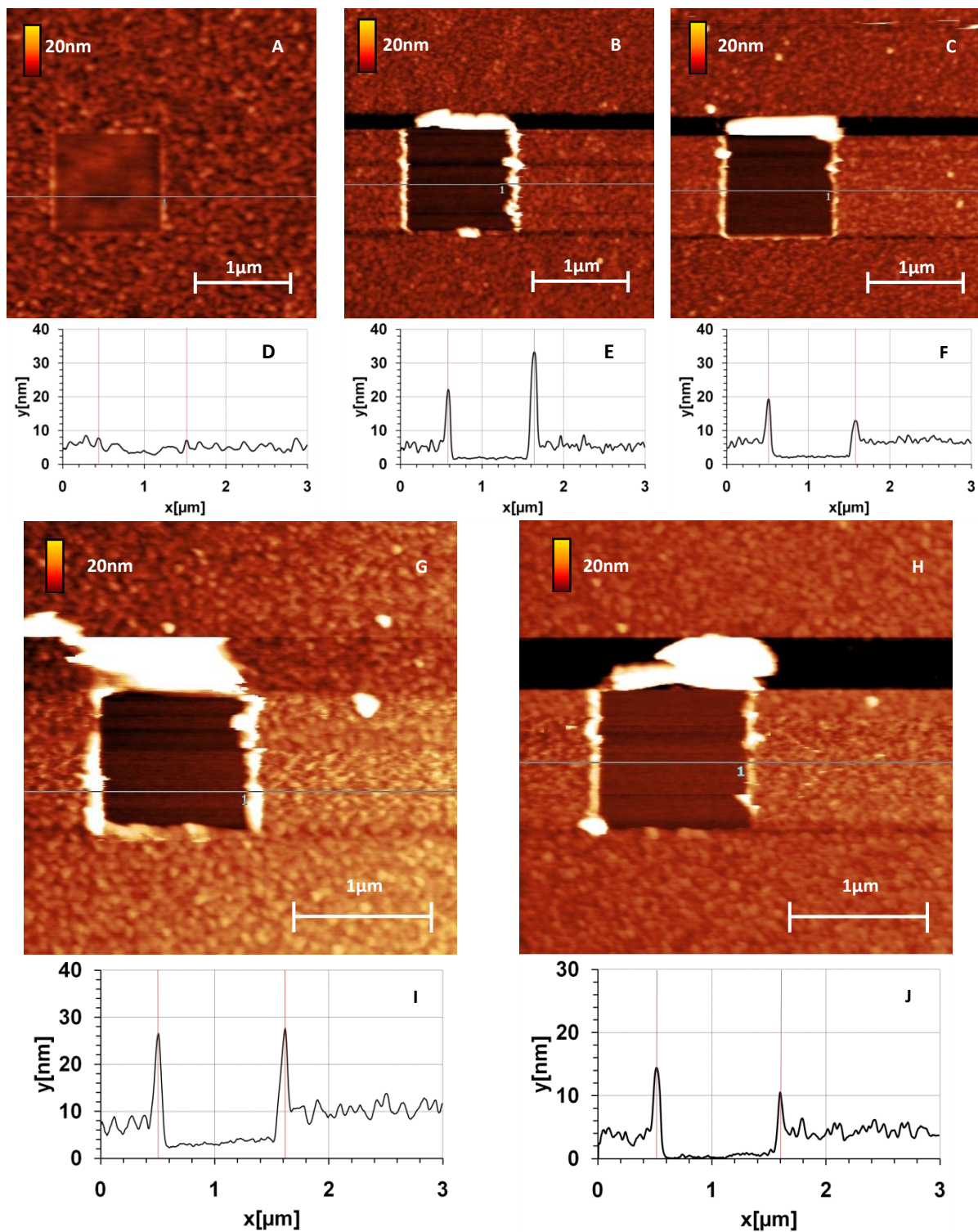


Figure 4.25 - Images AFM des surface de GaAs nue et biofonctionnalisées après un grattage fort (pointe de rigidité $k=0.58\text{N/m}$) sur une zone d'1 μm et leurs sections respectives : nue (A, D), 0% MHDA (B, E), 100% MHDA (C,F), mixte 10% MHDA (G,I) et 3% MHDA (H,J).

Pour chaque surface, la couche protéine / thiol est retirée et nous observons une zone carré très bien délimitée de 1 μm de côté correspondant à la zone grattée. Pour le substrat nu (Figure 4.25 A) et 0% MHDA (Figure 4.25 B), les images sont identiques à celles obtenues pour un grattage modéré, nous confortant dans l'idée qu'une la couche protéique est juste adsorbée sur la surface et n'est pas fortement liée à la surface. En appliquant une force importante, nous avons pu retirer de la matière

sur les surfaces 100% MHDA (Figure 4.25 C) et les interfaces mixtes 3% MHDA (Figure 4.25 H) et 10 % MHDA (Figure 4.25 G) et de larges bourrelets sont formés autour de la zone grattée, prouvant que des protéines et probablement des molécules thiolées ont été déplacées par le grattage. Le volume de ces bourrelets nous permet d'établir une comparaison de la quantité de molécules retirées sur la surface. Le substrat nu (Figure 4.25 A) et fonctionnalisé 0% MHDA (Figure 4.25 B), 100% MHDA (Figure 4.25 C), 3% MHDA (Figure 4.25 H) et 10% MHDA (Figure 4.25 G) présentent dans cet ordre des bourrelets de matière en périphérie des zones grattées de la surface, de plus en plus importants en hauteur. Les sections correspondantes (Figure 4.25 D, E, F, I, J) sont présentées. Le profil de la couche 0% MHDA (Figure 4.25 E) est similaire à la Figure 4.24 E et l'épaisseur moyenne de cette couche est 3.5nm. L'échantillon 100% MHDA présente une épaisseur de 4.4nm (Figure 4.25 F), et les interfaces mixtes ont une épaisseur de 4nm et 5.8nm pour 3% MHDA (Figure 4.25 J) et 10% MHDA (Figure 4.25 I) respectivement.

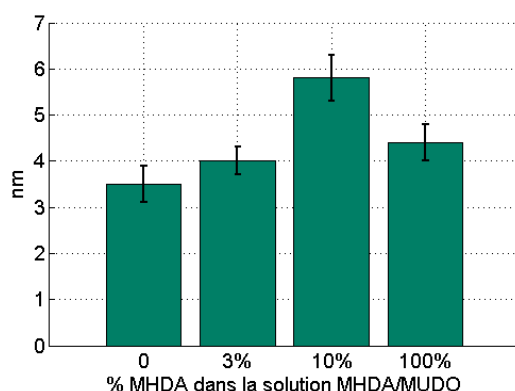


Figure 4.26 - Epaisseurs des couches « thiols + protéines » mesurées pour chaque interface chimique

Ces valeurs semblent correspondre à l'addition de deux couches : une couche fine de thiol de 1.5 nm [76] et une couche protéique de RSA [77]. La plus grande épaisseur obtenue pour la couche 10% MHDA est en accord avec les précédentes expériences car les molécules protéiques ne sont pas étalées sur la surface du fait de la proximité des protéines de RSA voisines.

Dans la zone grattée, nous observons des surfaces planes similaires. Dans le but d'analyser l'organisation de ces surfaces planes, nous réalisons des sections à l'intérieur et à l'extérieur de la zone grattée. Les valeurs Rms correspondantes à ces sections sont données dans la Figure 4.27.

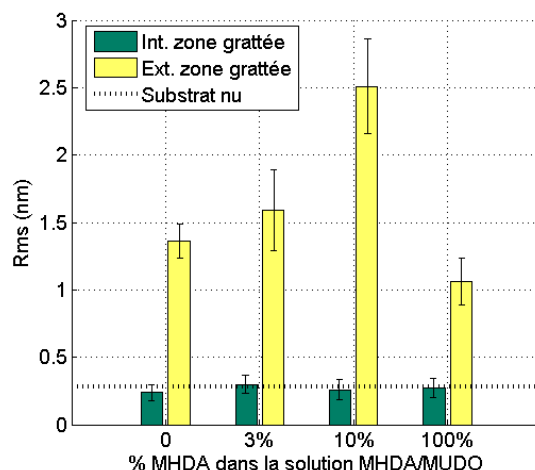


Figure 4.27 - Valeurs de Rms de la surface de GaAs modifiée par une couche protéique, à l'intérieur et à l'extérieur des zones grattées, pour chaque interface chimique.

Comme espéré, en dehors de la zone grattée, les valeurs Rms sont similaires à celles obtenues dans la Figure 4.23. Ainsi cela prouve la reproductibilité de notre procédé de fonctionnalisation et de greffage protéique. Dans la zone grattée, les valeurs Rms sont approximativement égales à 0.3 nm correspondant à la rugosité initiale du substrat non fonctionnalisé (ligne pointillée). Ce résultat semble indiquer que nous avons bien retiré à la fois la couche protéique et thiolée lors du grattage à force importante.

Ces résultats sont donc en adéquation avec les précédentes observations faites :

- La surface 0% MHDA semble autoriser l'adsorption protéique,
- La surface 100% MHDA présente un nombre de sites d'accroche surnuméraires comparativement au nombre nécessaire pour fixer une monocouche protéique. De plus, les protéines présentent de multiples liaisons avec la surface de GaAs modifiée. La conséquence de ce multi-pontage est en quelque sorte l'aplatissement du tapis protéique sur la surface,
- La surface 3% MHDA est certainement limitée par le nombre de sites d'accroche, réduisant de ce fait la couverture protéique sur la surface.
- La couche 10% MHDA semble être l'interface la plus appropriée car elle permet le greffage d'une couche protéique dense. Ce nombre de site d'accroche apparaît comme étant le plus approprié pour concevoir la meilleure interface de notre biocapteur.

4.4.5 Analyses *in situ* MALDI-TOF MS et MS² des protéines sur la surface de GaAs : identification et répartition surfacique

En parallèle des caractérisations AFM des différentes surfaces de GaAs, nous avons réalisé des analyses de spectrométrie de masse *in situ*, dans le but d'étudier le potentiel d'ionisation et la capacité de désorption des protéines présentes sur la surface de GaAs. Pour cela, nous avons coupé chaque échantillon de GaAs en deux parties, une partie étant caractérisée par AFM et l'autre servant

à l'analyse par spectrométrie de masse. Avec ces mesures, nous souhaitons faire une corrélation entre la densité des motifs observés par AFM et l'intensité du signal spécifique des protéines immobilisées, en spectrométrie de masse. Les résultats MS donnent une information plutôt qualitative sur la couche protéique recouvrant les différentes surfaces de GaAs chimiquement modifiées. Cependant, grâce à une méthode de mesure automatique sur plusieurs zones couvrant la totalité de la surface de la puce, nous sommes capables d'établir une comparaison semi-quantitative entre les différents échantillons. Cette analyse couplée AFM / MALDI-MS est vraiment originale car elle donne, sans nécessiter l'utilisation de marqueurs, des informations qualitatives et quantitatives complémentaires aux méthodes de photoluminescence [22, 65] ou de techniques de fluorescence avec marquage [40, 64, 65]. Le tableau ci-dessous donne les résultats des analyses MS et MS² des différentes surfaces testées.

| % MHDA | MS | | | MS ² (peptide |
|--------------------|------------|----------------|--------------|--------------------------|
| | Protéine | Peptides | Score Mascot | 1960 Da) |
| | identifiée | <i>matchés</i> | | Score Mascot |
| Substrat nu | / | / | / | / |
| 0% | RSA | 8 | 85.8 | 16.42 |
| 3% | RSA | 8 | 66.9 | 21.78 |
| 10% | RSA | 9 | 87 | 59.92 |
| 100% | RSA | 10 | 101 | 17.68 |

Tableau 4.5 - Résultats MS et MS² obtenus sur les différentes surfaces de GaAs fonctionnalisées.

La protéine RSA est identifiée sur chaque surface, à l'exception du substrat nu. Le spectre de l'échantillon non fonctionnalisé ne met pas en évidence de pics spécifiques, prouvant que la protéine RSA n'est pas adsorbée à la surface nue de GaAs. Pour les surfaces MHDA/MUDO, les scores Mascot sont significatifs pour chaque substrat car largement au dessus du score seuil de 30, ce qui confirme que les motifs observés par AFM correspondent vraiment à ceux des protéines de RSA. 8 peptides sont détectés sur 0% MHDA et 3% MHDA, 7 sont identiques et 1 est différent. Du fait que les séquences de peptides détectées sont différentes, les scores diffèrent. La séquence couverte par la surface 3% MHDA est moins significative que celle pour la surface 0% MHDA et se concrétise par un score plus faible. Pour la surface 10% MHDA, la séquence peptidique couverte contient les mêmes peptides détectés que les spectres des échantillons 0% MHDA et 3%MHDA, impliquant une augmentation du score Mascot. L'addition du pic 983.6Da dans la séquence peptidique confère à la surface 100% MHDA le plus haut score. Les scores Mascot obtenus et le nombre de peptides qui correspondent à ceux de la RSA sur les différents substrats GaAs sont proches de ceux obtenus sur substrat or (substrat de référence) avec les mêmes méthodes de biofonctionnalisation, prouvant la

capacité de détection *in situ* de protéines adsorbées ou greffées sur l'arséniure de gallium, par MS MALDI-TOF.

Des mesures par MS tandem (MS^2) sont réalisées sur chaque surface fonctionnalisée. La seconde fragmentation est réalisée sur le peptide 1960 Da, qui est un peptide spécifique de la protéine RSA. Un score de 60 est obtenu sur l'échantillon 10% MHDA et aux alentours de 20 pour les autres puces de GaAs fonctionnalisées. Le score obtenu sur la surface 10% MHDA est identique à celui obtenu sur une puce d'or étalon, ce qui prouve sans ambiguïté la présence du peptide 1960 Da sur la surface et met en évidence la possibilité d'étudier *in situ* la présence de peptides sur la surface de GaAs. Les spectres MS et MS^2 de cette surface sont présentés Figure 4.28.

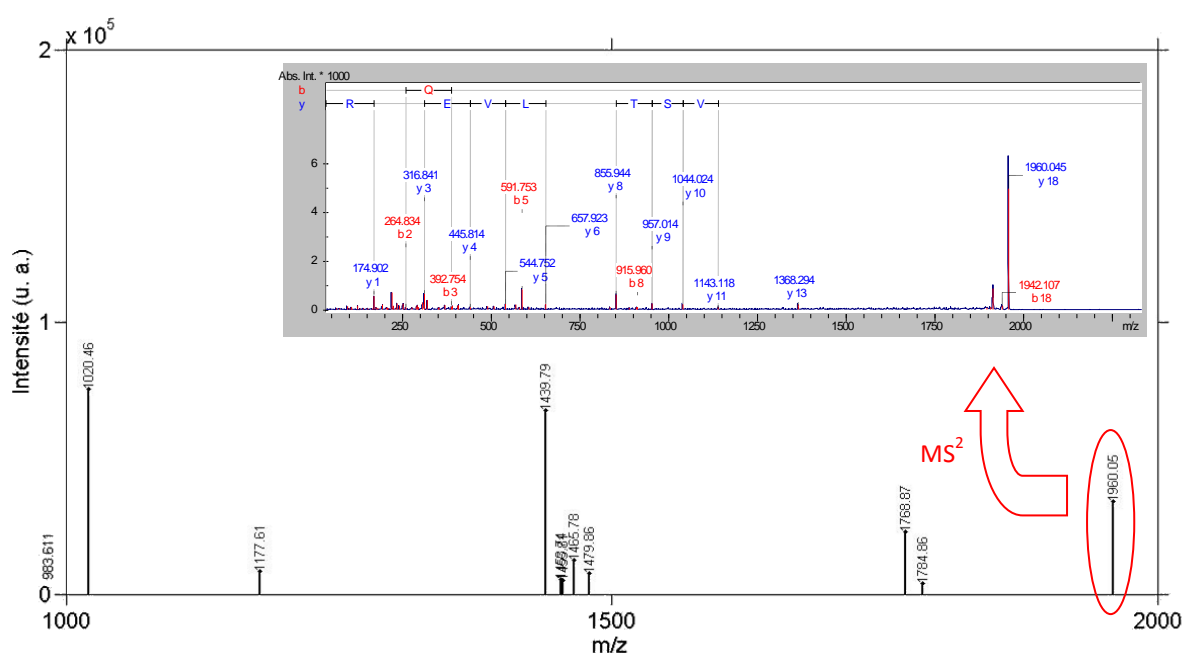


Figure 4.28 - Spectres MS (uniquement les pics « matchés » sont présentés) et MS^2 du peptide 1960Da sur une surface de GaAs (100) fonctionnalisée 10 % MHDA après greffage de la RSA

Si l'intensité du pic 1960 Da (Figure 4.30) reflète la quantité de ce peptide présent sur la surface, nous nous attendons à obtenir le plus haut score MS^2 pour la surface 0% MHDA, un score MS^2 moyen pour 10% MHDA et de faibles scores MS^2 pour 3% MHDA et 100% MHDA. Nos résultats (Tableau 4.5, 5^{ème} colonne) semblent suivre ces estimations, à l'exception de la surface 10% MHDA qui donne le plus faible score. Cette faible valeur indique qu'il y a plusieurs espèces qui ne sont pas attribuées au pic de 1960 Da, ce qui nous donne des raisons de croire que cette surface chimiquement modifiée induit des perturbations sur la fragmentation protéique et/ou sur la désorption peptidique.

Utilisant toujours les mêmes conditions expérimentales, sur une zone de 2 mm par 2 mm, nous pouvons obtenir une caractérisation semi-quantitative du tapis protéique déposé sur la surface de GaAs via une comparaison de l'intensité des peptides *matchés*. Sur chaque surface, nous collectons

une matrice de 17 par 17 spectres MS dans les mêmes conditions de tirs que précédemment, et nous ajoutons les intensités de chaque pic *matché*. Ces résultats sont reportés Figure 4.29.

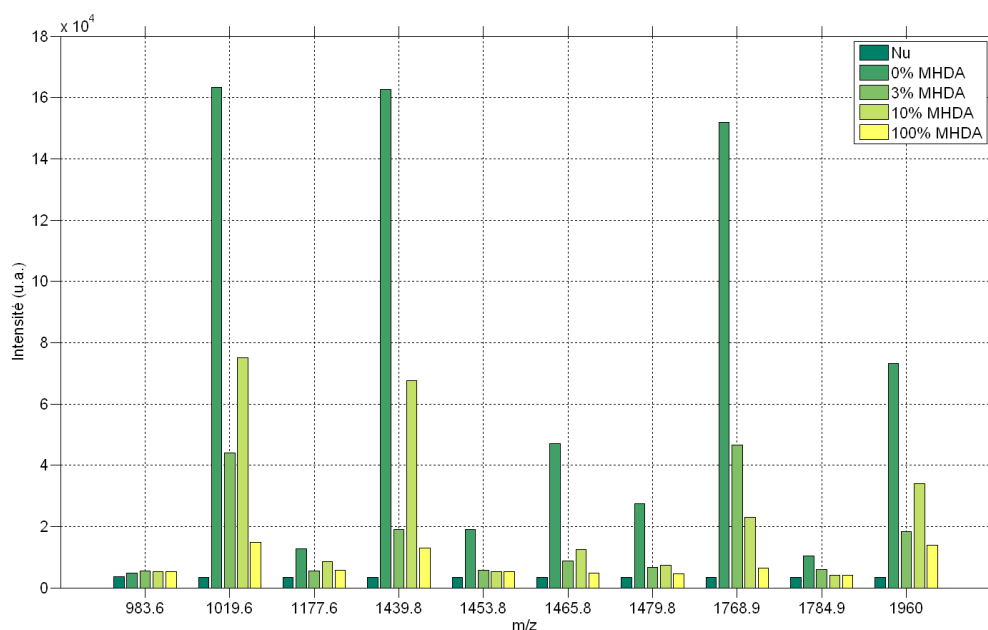


Figure 4.29 - Intensités MS des différents pics obtenus sur des échantillons de 2mm par 2mm sur substrats GaAs nu et fonctionnalisés après incubation dans la solution de RSA

Dans la Figure 4.29, pour la plupart des pics, nous observons une forte intensité pour l'interface 0% MHDA, une intensité moyenne pour l'interface 10% MHDA et de faibles intensités pour les interfaces 3% MHDA et 100% MHDA. Le substrat nu sert ici de référence et les faibles intensités de ses pics montrent encore une fois que les protéines de RSA ne sont pas adsorbées sur le substrat non fonctionnalisé. La forte intensité de l'interface 0% MHDA est surprenante car nous nous attendions à ce que cette surface montre un comportement plus proche du substrat nu. Les intensités des surfaces recouvertes de molécules MHDA exposent une gradation, de la plus faible à la plus forte intensité, avec respectivement une concentration en MHDA de 100%, 3% et 10%. Cette gradation était attendue, bien que différent légèrement comparativement aux analyses AFM. Pour illustrer ces résultats, nous reportons l'intensité du pic 1960 Da pour chaque position sur une surface de GaAs testée de $4 \mu\text{m}^2$.

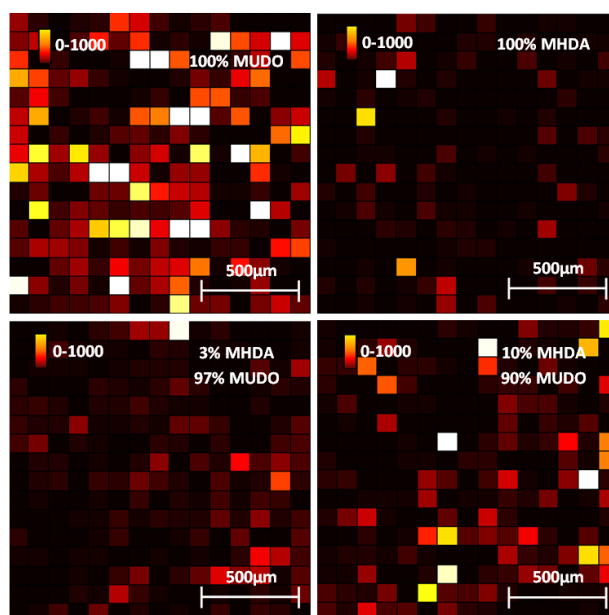


Figure 4.30 - Images d'intensité (unité arbitraire) du pic 1960 Da pour chaque surface de GaAs chimiquement modifiée après incubation dans la solution de RSA

Nous observons que la surface 0% MHDA présente apparemment la plus forte quantité de protéines RSA. Cette observation diffère des images AFM, qui montraient des motifs éparpillés de quelques nanomètres. Comment pouvons-nous expliquer cette différence entre les résultats AFM et MS ? Nous pouvons imaginer que l'ionisation peptidique est facilitée sur l'interface 100% MUDO (0% MHDA) comparativement aux surfaces MHDA, et qu'une plus grande quantité de peptides issus de la RSA est désorbée par le laser sur cette interface. En effet, comme nous l'avons observé durant les essais de grattage de la surface, le lien entre la protéine et l'interface chimique est faible pour l'interface 100% MUDO et fort pour les interfaces MHDA. Griesser et al. [78] prouvent que le signal peptidique MALDI décroît lors de l'augmentation de la force d'interaction substrat-peptide et Walker et al. [79] montrent que l'ionisation peptidique est très sensible à la nature de l'interaction chimique entre la surface et le peptide. Ce phénomène est particulièrement vrai pour la détection par MS de protéines entières. Même si la digestion protéique par la trypsine réduit fortement ce phénomène, nous pouvons, dans notre cas, imaginer que les différentes interfaces chimiques influencent aussi de façon importante le procédé d'ionisation. L'interaction non covalente entre les peptides et les chaînes alcanes des thiols et l'absence de groupement carboxyle sur surface 100% MUDO peut faciliter la désorption des molécules, ce qui induit une intensité plus importante que prévu du signal de réponse.

Cette théorie semble correcte au regard des résultats obtenus sur 100% MHDA. Les images AFM montrent que la couche protéique n'est pas significativement moins dense que sur 3%MHDA alors que le signal MS est faible, ce qui peut être expliqué par la surabondance de sites d'accroche (-COOH) et le multipontage des protéines sur la surface via ces nombreux sites d'accroche. La désorption peptidique serait alors fortement réduite par la présence de liaisons multiples entre la protéine et la surface. Pour les interfaces mixtes 3 et 10%, les résultats MS sont plutôt corrélés avec

les observations AFM : la plus forte concentration de MHDA induit une augmentation de l'intensité du signal MS. Afin de déterminer le nombre de sites d'accroche optimal pour permettre l'obtention d'un film protéique dense et organisé, nous avons récemment réalisé des analyses complémentaires sur des surfaces contenant un pourcentage de MHDA entre 10% et 100%.

4.4.6 Densité des sites d'accroches carboxyles et conséquences sur la reconstitution d'une couche protéique sur la surface de GaAs (100)

D'après les résultats précédents, nous voyons d'un côté qu'une concentration inférieure à 10% MHDA est insuffisante pour greffer une couche dense et homogène de protéines et, de l'autre côté, qu'une couche composée à 100% de MHDA induit de multiples liaisons entre la protéine et la surface, provoquant l'aplatissement du tapis protéique sur la surface et limitant la désorption par le laser en MS. Nous souhaitons donc vérifier le comportement pour une interface intermédiaire comportant entre 10% MHDA et 100% MHDA. Nous appliquons pour cela les méthodes de caractérisation précédemment décrites à des surfaces de GaAs fonctionnalisées avec des solutions contenant respectivement 20% et 50% de molécules de MHDA. Les images obtenues sont reportées dans la Figure 4.31.

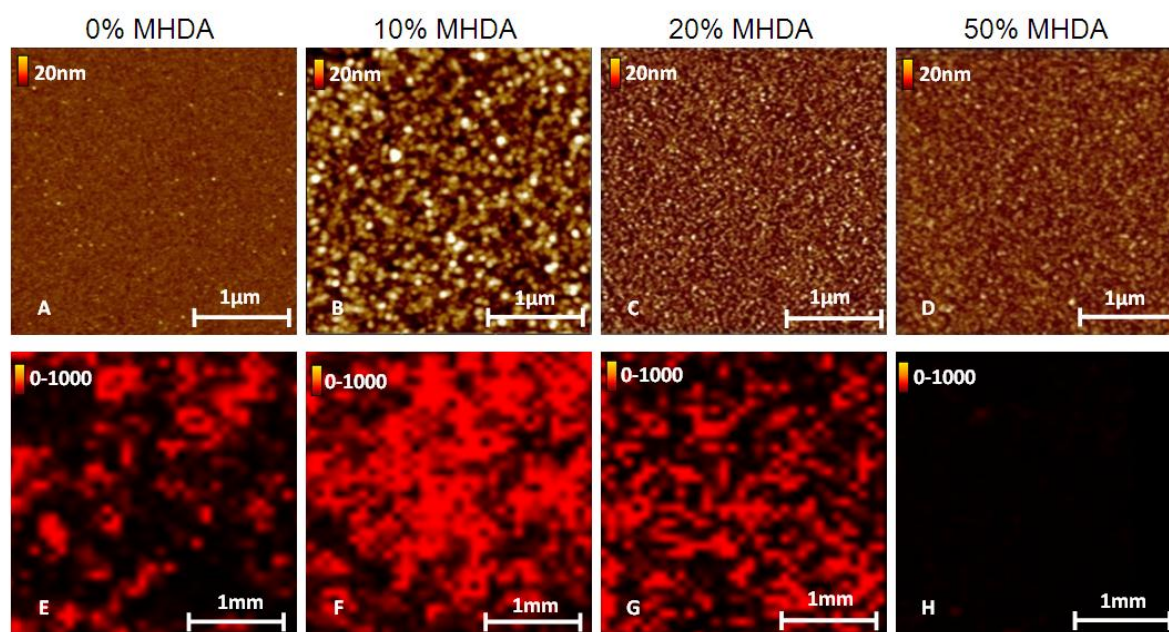


Figure 4.31 - Images AFM (A-D) et images des résultats MS (pic 1960 Da) (E-H) pour une concentration en MHDA de 0% à 50% : 0% MHDA (A,E), 10% MHDA (B,F), 20 % MHDA (C,G) et 50% MHDA (D,H).

Les images A, B, E et F montrent les mêmes résultats que ceux précédemment observés pour des interfaces 0% MHDA (A,E) et 10% MHDA (B,F). Ceci prouve une fois de plus la bonne reproductibilité de notre procédé de biofonctionnalisation. Sur l'interface 0% MHDA, nous observons des motifs épars correspondant aux protéines de RSA et un signal MS localement fort. L'interface 10% MHDA montre la couche protéique la plus dense et la plus organisée, corrélée par l'analyse MS qui montre une forte intensité. Pour de plus grandes concentration en MHDA (C, D, G, H), nous observons une

diminution drastique de la taille des motifs. Les images AFM de ces surfaces montrent des motifs de petites dimensions d'une dizaine de nanomètre alors que le signal MS diminue fortement pour une concentration de 20% jusqu'à quasiment s'éteindre pour 50% MHDA. Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse de protéines multi-pontées sur une surface fortement concentrée en MHDA. Ces observations affirment qu'une concentration en MHDA de 10% confère à la surface un nombre de sites d'ancrage optimal pour greffer une monocouche protéique homogène et dense.

Afin de s'assurer que nous observons bien les effets du nombre de sites d'accroche et non une mauvaise adaptation des conditions environnementales (par exemple le pH) de la solution lors du greffage protéique, une étude complémentaire a été menée. En effet, la variation de concentration de MHDA dans l'interface chimique entraîne une modification des propriétés électrochimiques de la surface. Ces variations électrochimiques nécessitent une adaptation du pH sans laquelle les conditions de greffage protéique optimales ne sont plus assurées. Une étude par analyse SPR sur puce d'or a été menée pour vérifier l'influence du pH et s'assurer des bonnes conditions de greffage protéique sur les différentes interfaces chimiques. Les valeurs de pH permettant un greffage optimal sur chaque surface sont déterminées puis utilisées durant le processus de greffage sur GaAs. Les conclusions des résultats présentés précédemment sont donc validées. La figure ci-dessous montre l'influence d'une mauvaise adaptation du pH de la solution tampon pendant le greffage de la RSA.

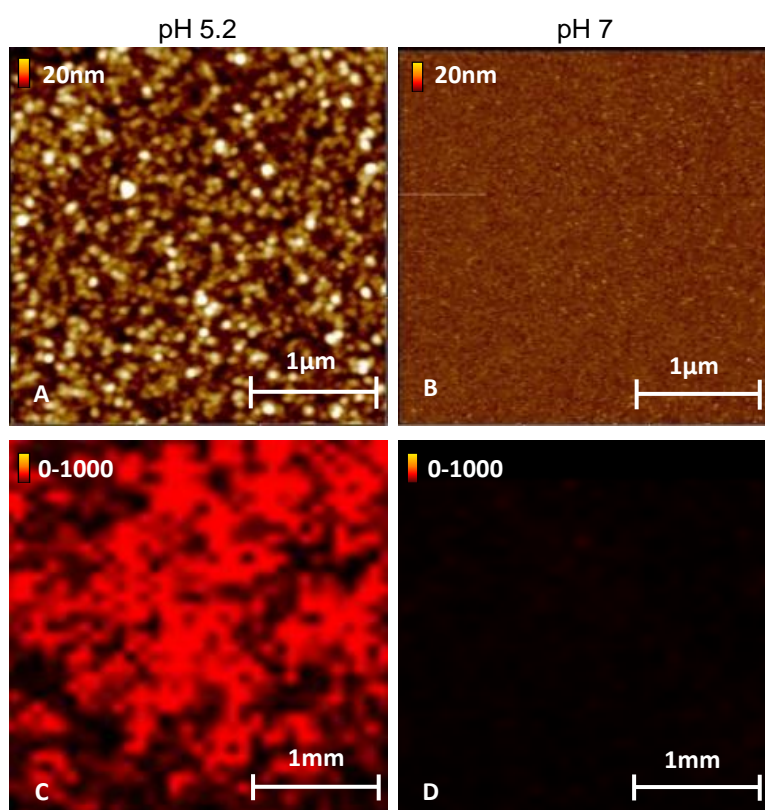


Figure 4.32 - Influence du pH du tampon acétate sur le greffage de RSA sur une surface de GaAs (100) fonctionnalisée 10% MHDA

Cette étude sur l'influence du pH a donc permis de vérifier que les conditions expérimentales choisies préalablement pour le greffage protéique sur GaAs modifié chimiquement étaient les

bonnes. Ainsi, les hypothèses et conclusions des résultats présentés précédemment sont donc validées.

Conclusion

L'étude de la fonctionnalisation de la surface de GaAs (100) nous a permis de valider le bon établissement de notre interface chimique mixte MUDO/MHDA. L'étude de tension de surface met en évidence les modifications surfaciques du matériau, conférant de nouvelles fonctionnalités au substrat. L'analyse par imagerie AFM et ellipsométrie montre le bon établissement des molécules de thiols sur la surface de GaAs désoxydée formant une monocouche dense et homogène, d'environ 1nm. La composition atomique de cette couche dense est donnée grâce à l'XPS qui prouve la bonne passivation de la surface par les thiols et montre la présence des deux groupements terminaux –OH et –COOH. Une analyse complémentaire par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) menée en collaboration avec le laboratoire de l'université de Sherbrooke nous apportera les informations complémentaires sur la composition exacte de la couche thiolée, notamment sur le ratio de groupements carboxyle et hydroxyle présents à la surface.

La présence de ces groupements fonctionnels terminaux a permis de fixer sur la surface d'arséniure de gallium un tapis protéique. Le greffage de ces protéines a été prouvé grâce au couplage original de méthodes de caractérisation : l'AFM et la spectrométrie de masse MALDI-TOF. Ces méthodes de caractérisation nous ont donné des informations complémentaires sur l'organisation, le type de liaison et la composition de la couche protéique en fonction de différentes interfaces chimiques. De plus, l'analyse MS de la couche protéique prouve la capacité d'analyser *in situ* les protéines présentes à la surface du matériau. L'interface chimique 10% MHDA / 90% MUDO présente apparemment un nombre optimal de sites d'accroche pour permettre l'organisation d'une monocouche protéique dense fixée de manière covalente à la surface de GaAs (100). Ces résultats sur l'optimisation de l'interface de bioreconnaissance laissent présager des perspectives de haute sélectivité et efficacité pour notre biocapteur qui serait fonctionnalisé par un anticorps sur 10% MHDA.

De plus, l'influence de la composition atomique en surface sur l'adsorption ou le greffage est une des voies d'exploration également importante, non seulement pour notre biocapteur mais aussi pour envisager la réalisation de substrat ou biocapteur micro/nanostructuré à visée diagnostique. Des premiers travaux ont été initiés dans ce sens. Possédant des propriétés différentes, les plans cristallins influencent grandement l'adsorption [4] ou le greffage de molécules. La caractérisation des modifications apportées par l'utilisation de substrats d'orientation cristalline variée, i.e. de propriétés surfaciques particulières, est une perspective supplémentaire qu'offre ce matériau cristallin. La réalisation de microstructures spécifiques par gravure humide (chapitre 2, section 2.7) ou par croissance de nanowires [80] confère aussi des propriétés particulières à la surface qui sont intéressantes à exploiter [81].

Couplée aux propriétés d'ionisation du substrat, une application de ces microstructures à des techniques de caractérisation de spectrométrie de masse SALDI-TOF (Substrat assisted laser desorption ionisation – time of flight) a pu aussi être testée avec des résultats encourageants. Cette

technique permet de s'affranchir de l'utilisation de matrice, car elle utilise des substrats qui, de par leur nature et leur micro/nanostructuration, ont, sous l'influence du laser, le potentiel de pouvoir désorber les molécules présentes en surface. Ceci a été réalisé avec succès sur substrat d'oxyde de titane (TiO_2) ou d'aluminium (Al_2O_3).

Or, s'affranchir de matrice permet de détecter tous les fragments peptidiques de faible masse (inférieure à 1000 Da) qui sont habituellement occultés par le bruit de basse masse induit par les résidus de la matrice. Dans le cas de puces à protéines, il est alors possible d'identifier des séquences peptidiques de très faible longueur et ainsi d'enrichir les signatures spectrales de chaque protéine. A l'image des résultats obtenus sur des substrats structurés comme le TiO_2 [⁸²], il est certainement possible de tirer avantage de la microstructuration de surface du GaAs pour la réalisation de puce à visée diagnostique ou pour une identification *in situ* de protéine d'intérêt sur la surface de GaAs fonctionnalisée.

Références

1. Fischer, E., *Ber. Deutch. Chem. Ges.* **1894**, 27, 2985.
2. Addadi, L.; Rubin, N.; Scheffer, L.; Ziblat, R., Two and Three-Dimensional Pattern Recognition of Organized Surfaces by Specific Antibodies. *Accounts of Chemical Research* **2008**, 41, (2), 254-264.
3. Estephan, E.; Bajoni, D.; Saab, M.-b.; Cloitre, T.; Aulombard, R.; Larroque, C.; Andreani, L. C.; Liscidini, M.; Malvezzi, A. M.; Gergely, C., Sensing by Means of Nonlinear Optics with Functionalized GaAs/AlGaAs Photonic Crystals. *Langmuir* **2010**, 26, (12), 10373-10379.
4. Goede, K.; Busch, P.; Grundmann, M., Binding Specificity of a Peptide on Semiconductor Surfaces. *Nano Letters* **2004**, 4, (11), 2115-2120.
5. Schnirman, A. A.; Zahavi, E.; Yeger, H.; Rosenfeld, R.; Benhar, I.; Reiter, Y.; Sivan, U., Antibody Molecules Discriminate between Crystalline Facets of a Gallium Arsenide Semiconductor. *Nano Letters* **2006**, 6, (9), 1870-1874.
6. Whaley, S. R.; English, D. S.; Hu, E. L.; Barbara, P. F.; Belcher, A. M., Selection of peptides with semiconductor binding specificity for directed nanocrystal assembly. *Nature* **2000**, 405, (6787), 665-668.
7. Willett, R. L.; Baldwin, K. W.; West, K. W.; Pfeiffer, L. N., Differential adhesion of amino acids to inorganic surfaces. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **2005**, 102, (22), 7817-7822.
8. Sepunaru, L.; Tsimberov, I.; Forolov, L.; Carmeli, C.; Carmeli, I.; Rosenwaks, Y., Picosecond Electron Transfer from Photosynthetic Reaction Center Protein to GaAs. *Nano Letters* **2009**, 9, (7), 2751-2755.
9. Cho, Y.; Ivanisevic, A., In vitro assessment of the biocompatibility of chemically modified GaAs surfaces. *NanoBioTechnology* **2006**, 2, (1), 51-59.
10. Stutzmann, M.; Garrido, J. A.; Eickhoff, M.; Brandt, M. S., Direct biofunctionalization of semiconductors: A survey. *physica status solidi a* **2006**, 203, (14), 3424-3437.
11. Arya, S. K.; Solanki, P. R.; Datta, M.; Malhotra, B. D., Recent advances in self-assembled monolayers based biomolecular electronic devices. *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, 24, (9), 2810-2817.
12. Stutzmann, M.; Garrido, J. A.; Eickhoff, M.; Brandt, M. S., Direct biofunctionalization of semiconductors: A survey. *physica status solidi (a)* **2006**, 203, (14), 3424-3437.
13. Adlkofer, K.; Shaporenko, A.; Zharnikov, M.; Grunze, M.; Ullman, A.; Tanaka, M., Chemical Engineering of Gallium Arsenide Surfaces with 4'-Methyl-4-mercaptobiphenyl and 4'-Hydroxy-4-mercaptobiphenyl Monolayers. *The Journal of Physical Chemistry B* **2003**, 107, (42), 11737-11741.
14. Adlkofer, K.; Tanaka, M., Stable Surface Coating of Gallium Arsenide with Octadecylthiol Monolayers. *Langmuir* **2001**, 17, (14), 4267-4273.
15. Ozasa, K.; Nemoto, S.; Hara, M.; Maeda, M., Modification/oxidation of GaAs surface in electrolytes for cell-culture bio-sensing devices. *physica status solidi (a)* **2006**, 203, (9), 2287-2293.
16. Stewart, M. P.; Maya, F.; Kosynkin, D. V.; Dirk, S. M.; Stapleton, J. J.; McGuinness, C. L.; Allara, D. L.; Tour, J. M., Direct Covalent Grafting of Conjugated Molecules onto Si, GaAs, and Pd Surfaces from Aryldiazonium Salts. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, 126, (1), 370-378.
17. Carter, D. E.; Aposhian, H. V.; Gandolfi, A. J., The metabolism of inorganic arsenic oxides, gallium arsenide, and arsine: a toxicological review. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2003**, 193, (3), 309-334.
18. Harrison, M. T.; Hartmann, C. B.; McCoy, K. L., Impact of in vitro gallium arsenide exposure on macrophages. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2003**, 186, (1), 18-27.
19. Hartmann, C. B.; McCoy, K. L., Gallium arsenide exposure impairs processing of particulate antigen by macrophages: Modification of the antigen reverses the functional defect. *Life Sciences* **2004**, 75, (4), 485-498.
20. Bent, S. F., Heads or Tails: Which Is More Important in Molecular Self-Assembly? *ACS Nano* **2007**, 1, (1), 10-12.

21. Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M., Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chemical Reviews* **2005**, 105, (4), 1103-1170.
22. Duplan, V.; Frost, E.; Dubowski, J. J., A photoluminescence-based quantum semiconductor biosensor for rapid in situ detection of Escherichia coli. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2011**, 160, (1), 46-51.
23. Onodera, K.; Hirano-Iwata, A.; Miyamoto, K.-i.; Kimura, Y.; Kataoka, M.; Shinohara, Y.; Niwano, M., Label-Free Detection of Protein-Protein Interactions at the GaAs/Water Interface through Surface Infrared Spectroscopy: Discrimination between Specific and Nonspecific Interactions by Using Secondary Structure Analysis. *Langmuir* **2007**, 23, (24), 12287-12292.
24. Dubowski, J. J.; Voznyy, O.; Marshall, G. M., Molecular self-assembly and passivation of GaAs (0 0 1) with alkanethiol monolayers: A view towards bio-functionalization. *Applied Surface Science* **2010**, 256, (19), 5714-5721.
25. Jun, Y.; Zhu, X. Y.; Hsu, J. W. P., Formation of Alkanethiol and Alkanedithiol Monolayers on GaAs(001). *Langmuir* **2006**, 22, (8), 3627-3632.
26. McGuiness, C. L.; Blasini, D.; Masejewski, J. P.; Uppili, S.; Cabarcos, O. M.; Smilgies, D.; Allara, D. L., Molecular Self-Assembly at Bare Semiconductor Surfaces: Characterization of a Homologous Series of n-Alkanethiolate Monolayers on GaAs(001). *ACS Nano* **2007**, 1, (1), 30-49.
27. Lunt, S. R.; Ryba, G. N.; Santangelo, P. G.; Lewis, N. S., Chemical studies of the passivation of GaAs surface recombination using sulfides and thiols. *Journal of Applied Physics* **1991**, 70, (12), 7449-7467.
28. McGuiness, C. L.; Shaporenko, A.; Zharnikov, M.; Walker, A. V.; Allara, D. L., Molecular Self-Assembly at Bare Semiconductor Surfaces: Investigation of the Chemical and Electronic Properties of the Alkanethiolate-GaAs(001) Interface. *The Journal of Physical Chemistry C* **2007**, 111, (11), 4226-4234.
29. Nakagawa, O. S.; Ashok, S.; Sheen, C. W.; Mårtensson, J.; Allara, D. L., GaAs Interfaces with Octadecyl Thiol Self-Assembled Monolayer: Structural and Electrical Properties. *Japanese Journal Of Applied Physics* **1991**, 30, 3759-3562.
30. McGuiness, C. L.; Diehl, G. A.; Blasini, D.; Smilgies, D.-M.; Zhu, M.; Samarth, N.; Weidner, T.; Ballav, N.; Zharnikov, M.; Allara, D. L., Molecular Self-Assembly at Bare Semiconductor Surfaces: Cooperative Substrate-Molecule Effects in Octadecanethiolate Monolayer Assemblies on GaAs(111), (110), and (100). *ACS Nano* **2010**, 4, (6), 3447-3465.
31. Seker, F.; Meeker, K.; Kuech, T. F.; Ellis, A. B., Surface Chemistry of Prototypical Bulk II-VI and III-V Semiconductors and Implications for Chemical Sensing. *Chemical Reviews* **2000**, 100, (7), 2505-2536.
32. Wink, T.; Zuilen, S. J. v.; Bult, A.; Bennekorn, W. P. v., Self-assembled Monolayers for Biosensors. *Analyst* **1997**, 122, 43R-50R.
33. Lubner, S. M.; Adlkofer, K.; Rant, U.; Ullman, A.; Götzhäuser, A.; Grunze, M.; Schuh, D.; Tanaka, M.; Tornow, M.; Abstreiter, G., Liquid phase sensors based on chemically functionalized GaAs/AlGaAs heterostructures. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures* **2004**, 21, (2-4), 1111-1115.
34. Mohaddes-Ardabili, L.; Martinez-Miranda, L. J.; Silverman, J.; Christou, A.; Salamanca-Riba, L. G.; Al-Sheikhly, M.; Bentley, W. E.; Ohuchi, F., Attachment of DNA probes on gallium arsenide surface. *Applied Physics Letters* **2003**, 83, (1), 192-194.
35. Gartsman, K.; Cahen, D.; Kadyshkevitch, A.; Libman, J.; Moav, T.; Naaman, R.; Shanzer, A.; Umansky, V.; Vilan, A., Molecular control of a GaAs transistor. *Chemical Physics Letters* **1998**, 283, (5-6), 301-306.
36. Bastide, S.; Butruille, R.; Cahen, D.; Dutta, A.; Libman, J.; Shanzer, A.; Sun, L.; Vilan, A., Controlling the Work Function of GaAs by Chemisorption of Benzoic Acid Derivatives. *The Journal of Physical Chemistry B* **1997**, 101, (14), 2678-2684.

37. Vilan, A.; Ussyshkin, R.; Gartsman, K.; Cahen, D.; Naaman, R.; Shanzer, A., Real-Time Electronic Monitoring of Adsorption Kinetics: Evidence for Two-Site Adsorption Mechanism of Dicarboxylic Acids on GaAs(100). *The Journal of Physical Chemistry B* **1998**, 102, (18), 3307-3309.
38. Iozzi, M.; Cossi, M., Theoretical modeling of the benzoic acid adsorption on the GaAs (001)- $\beta_2(2 \times 4)$ oxidized surface. *Theoretical Chemistry Accounts: Theory, Computation, and Modeling (Theoretica Chimica Acta)* **2007**, 117, (5), 673-683.
39. Artzi, R.; Daube, S. S.; Cohen, H.; Naaman, R., Adsorption of Organic Phosphate as a Means To Bind Biological Molecules to GaAs Surfaces. *Langmuir* **2003**, 19, (18), 7392-7398.
40. Duplan, V.; Miron, Y.; Frost, E.; Grandbois, M.; Dubowski, J. J., Specific immobilization of influenza A virus on GaAs (001) surface. *Journal of Biomedical Optics* **2009**, 14, (5), 054042.
41. Boireau, W.; Rouleau, A.; Lucchi, G.; Ducoroy, P., Revisited BIA-MS combination: Entire "on-a-chip" processing leading to the proteins identification at low femtomole to sub-femtomole levels. *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, 24, (5), 1121-1127.
42. Briand, E.; Salmain, M.; Compère, C.; Pradier, C.-M., Immobilization of Protein A on SAMs for the elaboration of immunosensors. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2006**, 53, (2), 215-224.
43. Briand, E.; Salmain, M.; Herry, J.-M.; Perrot, H.; Compère, C.; Pradier, C.-M., Building of an immunosensor: How can the composition and structure of the thiol attachment layer affect the immunosensor efficiency? *Biosensors and Bioelectronics* **2006**, 22, (3), 440-448.
44. Lebedev, M., Methylthiol adsorption on GaAs(100)- (2×4) surface: Ab initio quantum-chemical analysis. *Semiconductors* **2008**, 42, (9), 1048-1054.
45. Tang, S.; Cao, Z., Density Functional Characterization of Adsorption and Decomposition of 1-Propanethiol on the Ga-Rich GaAs (001) Surface. *The Journal of Physical Chemistry A* **2009**, 113, (19), 5685-5690.
46. Voznyy, O.; Dubowski, J. J., Structure, Bonding Nature, and Binding Energy of Alkanethiolate on As-Rich GaAs (001) Surface: A Density Functional Theory Study. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, 110, (47), 23619-23622.
47. Voznyy, O.; Dubowski, J. J., Adsorption Kinetics of Hydrogen Sulfide and Thiols on GaAs (001) Surfaces in a Vacuum. *The Journal of Physical Chemistry C* **2008**, 112, (10), 3726-3733.
48. Camillone III, N.; Khan, K. A.; Osgood Jr, R. M., The thermal chemistry of model organosulfur compounds on gallium arsenide (110). *Surface Science* **2000**, 453, (1-3), 83-102.
49. Lee, K.; Nair, P. R.; Alam, M. A.; Janes, D. B.; Wampler, H. P.; Zemlyanov, D. Y.; Ivanisevic, A., Electrical detection of the biological interaction of a charged peptide via gallium arsenide junction-field-effect transistors. *Journal of Applied Physics* **2008**, 103, (11), 114510-7.
50. Voznyy, O.; Dubowski, J. J., Structure of Thiol Self-Assembled Monolayers Commensurate with the GaAs (001) Surface. *Langmuir* **2008**, 24, (23), 13299-13305.
51. McGuinness, C. L.; Shaporenko, A.; Mars, C. K.; Uppili, S.; Zharnikov, M.; Allara, D. L., Molecular Self-Assembly at Bare Semiconductor Surfaces: Preparation and Characterization of Highly Organized Octadecanethiolate Monolayers on GaAs(001). *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, (15), 5231-5243.
52. Moumanis, K.; Ding, X.; Dubowski, J. J.; Frost, E. H., Aging and detergent washing effects of the surface of (001) and (110) GaAs passivated with hexadecanethiol. *Journal of Applied Physics* **2006**, 100, (3), 034702-5.
53. Rodriguez, L. M.; Gayone, J. E.; Sanchez, E. A.; Grizzi, O.; Blum, B.; Salvarezza, R. C.; Xi, L.; Lau, W. M., Gas Phase Formation of Dense Alkanethiol Layers on GaAs(110). *Journal of the American Chemical Society* **2007**, 129, (25), 7807-7813.
54. Blakemore, J. S., Semiconducting and other major properties of gallium arsenide. *Journal of Applied Physics* **1982**, 53, (10), R123-R181.
55. Ding, X.; Dubowski, J. J., Surface passivation of (001) GaAs with self-assembled monolayers of long-chain thiols. *Proc. SPIE* **2005**, 5713, (1), 545-551.
56. Nesher, G.; Vilan, A.; Cohen, H.; Cahen, D.; Amy, F.; Chan, C.; Hwang, J.; Kahn, A., Energy Level and Band Alignment for GaAs-Alkylthiol Monolayer-Hg Junctions from Electrical Transport and Photoemission Experiments. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, 110, (29), 14363-14371.

57. Sheen, C. W.; Shi, J. X.; Maartensson, J.; Parikh, A. N.; Allara, D. L., A new class of organized self-assembled monolayers: alkane thiols on gallium arsenide(100). *Journal of the American Chemical Society* **1992**, 114, (4), 1514-1515.
58. Zhang, Q.; Huang, H.; He, H.; Chen, H.; Shao, H.; Liu, Z., Determination of locations of sulfur, amide-nitrogen and azo-nitrogen in self-assembled monolayers of alkanethiols and azobenzenethiols on Au (111) and GaAs (100) by angle-resolved X-ray photoelectron spectroscopy. *Surface Science* **1999**, 440, (1-2), 142-150.
59. Aoyagi, S.; Rouleau, A.; Boireau, W., TOF-SIMS structural characterization of self-assembly monolayer of cytochrome b5 onto gold substrate. *Applied Surface Science* **2008**, 255, (4), 1071-1074.
60. Rusmini, F.; Zhong, Z.; Feijen, J., Protein Immobilization Strategies for Protein Biochips. *Biomacromolecules* **2007**, 8, (6), 1775-1789.
61. Frasconi, M.; Mazzei, F.; Ferri, T., Protein immobilization at gold-thiol surfaces and potential for biosensing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2010**, 398, (4), 1545-1564.
62. Fischer, M. J. E., Amine coupling through EDC/NHS: A practical approach. In *Surface Plasmon Resonance*, Springer, Ed. 2010.
63. Frolov, L.; Rosenwaks, Y.; Richter, S.; Carmeli, C.; Carmeli, I., Photoelectric Junctions Between GaAs and Photosynthetic Reaction Center Protein. *The Journal of Physical Chemistry C* **2008**, 112, (35), 13426-13430.
64. Ding, X.; Moumanis, K.; Dubowski, J. J.; Frost, E. H., A study of binding biotinylated nano-beads to the surface of (001) GaAs. *Proc. SPIE* **2006**, 6106, (1), 61061L.
65. Ding, X.; Moumanis, K.; Dubowski, J. J.; Frost, E. H.; Escher, E., Immobilization of avidin on (001) GaAs surface. *Applied Physics A: Materials Science & Processing* **2006**, 83, (3), 357-360.
66. Remy-Martin, F.; Osta, M. E.; Lucchi, G.; Zeggari, R.; Leblois, T.; Bellon, S.; Ducoroy, P.; Boireau, W., Surface Plasmon Resonance imaging in arrays coupled with Mass Spectrometry : proof of concept of on-chip characterizations of a potential breast cancer marker in human plasma. (SUPRA-MS). **2012**.
67. Ding, X.; Moumanis, K.; Dubowski, J. J.; Tay, L.; Rowell, N. L., Fourier-transform infrared and photoluminescence spectroscopies of self-assembled monolayers of long-chain thiols on (001) GaAs. *Journal of Applied Physics* **2006**, 99, (5), 054701-6.
68. Frederix, F.; Bonroy, K.; Laureyn, W.; Reekmans, G.; Campitelli, A.; Dehaen, W.; Maes, G., Enhanced Performance of an Affinity Biosensor Interface Based on Mixed Self-Assembled Monolayers of Thiols on Gold. *Langmuir* **2003**, 19, (10), 4351-4357.
69. Abdelghani, A., Atomic force microscopy on bare and thiol monolayer covered gallium arsenide. *Materials Letters* **2001**, 50, (2-3), 73-77.
70. Osakabe, S.; Adachi, S., Chemical Treatment Effect of (001) GaAs Surfaces in Alkaline Solutions. *Journal of The Electrochemical Society* **1997**, 144, (1), 290-294.
71. Abdelghani, A.; Jacquin, C., Structural characterization of GaAs/thiol/electrolyte interface. *Materials Letters* **2000**, 46, (6), 320-326.
72. Ye, S.; Li, G.; Noda, H.; Uosaki, K.; Osawa, M., Characterization of self-assembled monolayers of alkanethiol on GaAs surface by contact angle and angle-resolved XPS measurements. *Surface Science* **2003**, 529, (1-2), 163-170.
73. Heister, K.; Zharnikov, M.; Grunze, M.; Johansson, L. S. O., Adsorption of Alkanethiols and Biphenylthiols on Au and Ag Substrates: A High-Resolution X-ray Photoelectron Spectroscopy Study. *The Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105, (19), 4058-4061.
74. Briggs, D.; Grant, J. T., *Surface analysis by Auger and R-Ray photoelectron spectroscopy*. IMPublications: Chichester, 2003.
75. Wieliczka, D. M.; Ding, X.; Dubowski, J. J., X-ray photoelectron spectroscopy study of self-assembled monolayers of alkanethiols on (001) GaAs. *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films* **2006**, 24, (5), 1756-1759.
76. Zhou, C.; Walker, A. V., UV Photooxidation and Photopatterning of Alkanethiolate Self-Assembled Monolayers (SAMs) on GaAs (001). *Langmuir* **2007**, 23, (17), 8876-8881.

77. Peters, T.; Anfinsen, C. B.; Edsall, J. T.; Richards, F. M., Serum Albumin. In *Advances in Protein Chemistry*, Elsevier, Ed. Academic Press: 1985; Vol. Volume 37, pp 161-245.
78. Griesser, H. J.; Kingshott, P.; McArthur, S. L.; McLean, K. M.; Kinsel, G. R.; Timmons, R. B., Surface-MALDI mass spectrometry in biomaterials research. *Biomaterials* **2004**, 25, (20), 4861-4875.
79. Walker, A. K.; Qiu, H.; Wu, Y.; Timmons, R. B.; Kinsel, G. R., Studies of Peptide Binding to Allyl Amine and Vinyl Acetic Acid-Modified Polymers Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Analytical Biochemistry* **1999**, 271, (2), 123-130.
80. Joyce, H. J.; Gao, Q.; Tan, H. H.; Jagadish, C.; Kim, Y.; Fickenscher, M. A.; Perera, S.; Hoang, T. B.; Smith, L. M.; Jackson, H. E.; Yarrison-Rice, J. M.; Zhang, X.; Zou, J., High Purity GaAs Nanowires Free of Planar Defects: Growth and Characterization. *Advanced Functional Materials* **2008**, 18, (23), 3794-3800.
81. Bin, X.; Sargent, E. H.; Kelley, S. O., Nanostructuring of Sensors Determines the Efficiency of Biomolecular Capture. *Analytical Chemistry* 82, (14), 5928-5931.
82. Bi, H.; Qiao, L.; Busnel, J.-M.; Devaud, V.; Liu, B.; Girault, H. H., TiO₂ Printed Aluminum Foil: Single-Use Film for a Laser Desorption/Ionization Target Plate. *Analytical Chemistry* **2009**, 81, (3), 1177-1183.

5 Tests du dispositif, développement des interfaces électriques et fluidiques, mise en œuvre du banc de mesure.

Introduction

Après avoir établi les expressions théoriques du capteur, défini les paramètres géométriques, mis au point le protocole de fabrication et développé l'interface de bioreconnaissance, il est maintenant temps de tester les dispositifs réalisés afin de valider leur comportement et de vérifier si les performances escomptées sont atteintes.

Mais avant de débiter la caractérisation, il est nécessaire de se pencher sur la méthode de mesure à adopter et sur l'ensemble des éléments à intégrer dans la chaîne de mesure. La méthode d'indentification choisie est la technique la plus classique pour la caractérisation de dispositifs à ondes de volume : Il s'agit de mesurer l'impédance du dispositif en étudiant les pics induits par la résonance lors de la mise en vibration de la structure. La mesure est réalisée sur un analyseur de réseau contenant un kit d'adaptation pour la mesure d'impédance.

L'adaptation de notre dispositif à l'appareil de mesure nécessite le développement d'une interface électrique. Une première interface très sommaire a été développée et a permis d'établir les premières mesures de notre dispositif. Cependant, les limites de cette interface ont été rapidement atteintes, ce qui nous a poussé à développer une interface plus adaptée à la mesure de biocapteur en incorporant notamment une cellule fluidique.

Les interfaces électriques et fluidiques ont été respectivement développées afin d'accroître la précision de la mesure (ligne de transmission adaptée, réduction du bruit de mesure) et d'assurer un acheminement correct du fluide sur la surface active du capteur. Elles assurent de plus le maintien du capteur et la connexion avec le reste des instruments grâce à des connexions non permanentes qui permettent de tester rapidement plusieurs dispositifs.

Un banc de mesure a été spécialement développé afin d'identifier les caractéristiques de notre résonateur. Le banc conçu contient une enceinte permettant de travailler sous vide ou sous gaz inerte, un circuit fluidique et un système de régulation thermique. Toutes les données (température, pression, débit du fluide) sont transmises à un ordinateur qui enregistre en même temps les données de l'analyseur de réseau.

Durant ce chapitre, nous nous intéresserons dans un premier temps à l'instrumentation nécessaire et au conditionnement du capteur pour permettre les mesures d'impédances sur les dispositifs réalisés. Après avoir identifié les différentes sources de problèmes pouvant entacher les mesures, nous expliquerons les améliorations apportées au banc de mesure et aux interfaces électrique et fluidique. Enfin, nous terminerons en exploitant les résultats préliminaires que nous avons obtenus avec nos dispositifs.

5.1 Réalisation d'un banc de mesure dédié pour la caractérisation de biocapteurs résonants

5.1.1 Instrumentation et conditionnement du capteur

La mesure est réalisée sur un analyseur de réseau HP 4395A fonctionnant en mode impédance. Il est pour cela équipé d'un kit de mesure d'impédance HP 43961A. Dans ce mode de fonctionnement, l'analyseur effectue un balayage en fréquence et restitue l'amplitude et la phase de l'impédance ou de l'admittance pour chacune des fréquences.

L'analyseur HP 4395A est connecté à un ordinateur par l'intermédiaire de son port GPIB et d'une interface GPIB/USB. Il est ainsi possible de le commander directement depuis l'ordinateur et de réaliser des séquences automatiques de mesure. Le logiciel Matlab a été préféré pour communiquer avec l'analyseur de réseau du fait de la multitude de possibilités qu'il offre pour traiter les données. La communication se fait grâce à l'utilitaire « test & measurement » et à la boîte à outils « instrument control toolbox ».

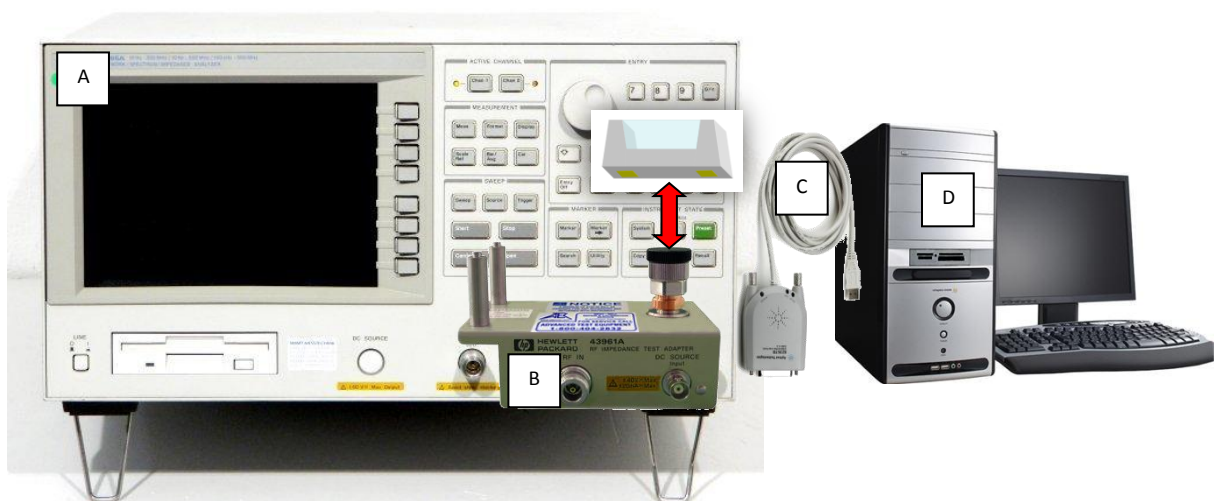


Figure 5.1 - Analyseur de réseau HP4395A (A) avec kit de mesure d'impédance HP 43961A (B). L'analyseur est commandé par l'ordinateur via son port GPIB et un connecteur GPIB/USB (C). L'interface de commande est réalisée sous Matlab (utilitaire « test & measurement », boîte à outils « instrument control ») afin de faciliter le traitement des données (D).

Une première maquette a donc été conçue pour adapter notre dispositif à cette instrumentation. La maquette est constituée d'un circuit imprimé contenant deux pistes pour alimenter les électrodes. Ces pistes sont reliées aux électrodes du dispositif grâce à des fils d'or soudés (wirebonding). Cette plaquette permet de caractériser la plupart des composants électriques à broches ou se montant en surface (SMD) et s'adapte directement sur le kit d'impédance HP 43961A. Le composant est maintenu par collage sur la maquette et des trous oblongs permettent l'accès aux membranes par la face opposée du circuit imprimé pour pouvoir y déposer un liquide. La Figure 5.2 montre le montage réalisé.

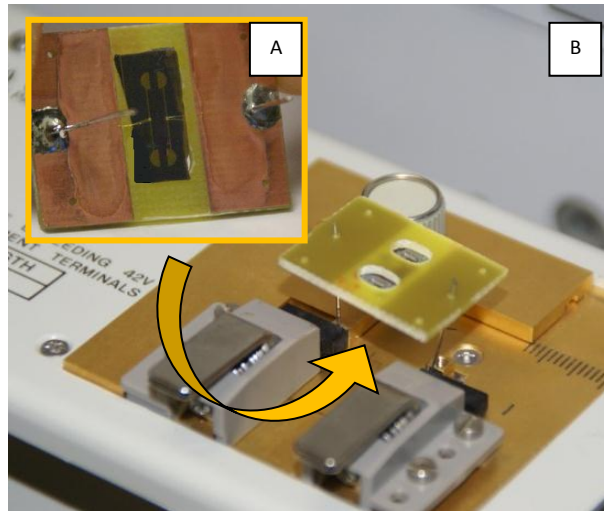


Figure 5.2 - Montage expérimental sommaire pour le test du dispositif : A) face avant : dispositif collé dont les électrodes sont reliées aux pistes du circuit imprimé par wire bonding, pattes soudées aux pistes du circuit imprimé B) face arrière : montage sur la plaquette HP 16092A et ouverture du circuit imprimé pour permettre l'accès aux membranes.

Afin d'assurer une mesure juste, l'analyseur de réseau en mode impédance nécessite un étalonnage. L'étalonnage de l'instrument permet de donner une référence à l'appareil tenant compte des différents éléments de la chaîne de mesure. L'étalonnage introduit donc des facteurs correctifs qui permettent de calculer les vraies valeurs à partir des indications brutes de l'analyseur. Dans la configuration utilisée, nous devons étalonner l'analyseur à partir du kit d'impédance HP 43961A grâce aux étalons fournis. Un facteur correctif additionnel est ensuite introduit pour prendre en compte la plaquette HP 16092A (longueur électrique équivalente de ce composant).

L'étalonnage se fait par trois étalons :

- Le circuit ouvert (open) : c'est le calibre correspondant à un circuit ouvert idéal, c'est-à-dire d'admittance nulle (0 S).
- Le court circuit (short) : c'est le calibre correspondant à un circuit fermé idéal, c'est-à-dire d'impédance nulle ($0\ \Omega$)
- La charge : c'est le calibre qui correspond à une valeur de résistance de $50\ \Omega$.

L'étalonnage se fait dans l'ordre défini ci-dessus en connectant successivement chacun des étalons au kit d'impédance. A la fin de ces trois étapes, l'analyseur calcule les coefficients correctifs auxquels on ajoute celui de la plaquette HP 16092A. La calibration n'est cependant valable que pour une plage de fréquences et pour la configuration utilisée (nombre de point, temps d'intégration, puissance...etc.), il est donc nécessaire de recommencer cette opération dès que nous modifions un de ces paramètres.

Grâce à ce dispositif de mesure, nous avons pu réaliser une série de mesures sur des membranes et des plaques de différentes épaisseurs : 350 μm (bulk), 200 μm (bulk aminci), 100 μm , 50 μm et 30 μm . Les résultats et analyses de ces mesures sont données dans la section 5.3.1.2.

Lors de ces mesures, nous avons mis en évidence un certain nombre de problèmes :

- La réalisation de mesures en milieu liquide sans avoir recours à une cellule fluidique n'est pas adaptée. La faible quantité de liquide utilisée ainsi que l'échauffement du capteur engendre une forte évaporation du liquide et il est difficile d'obtenir une mesure stable dans ces conditions. Il est donc nécessaire de développer une interface fluidique adaptée à notre capteur (§5.2.2)
- Les interactions biologiques nécessitent de nombreuses opérations avec différentes solutions. De plus, il est préférable de réaliser les mesures « biologiques » en dynamique, c'est-à-dire qu'il faut conserver un flux sur la surface active pour améliorer les échanges entre le milieu biologique et la surface active. Le taux de capture et la sélectivité de la couche sont améliorés avec ce mode de fonctionnement. Un circuit fluidique est donc nécessaire (§ 5.1.4).
- Pour mesurer un dispositif, il est nécessaire de réaliser une maquette et de connecter le capteur à cette plaquette par wirebonding, ce qui engendre une perte de temps ainsi qu'un risque de détruire l'échantillon. Des effets d'antennes (variation importante du signal lorsqu'on s'approche d'une partie du circuit électrique de test) sont aussi visibles pendant la mesure. Nous avons donc repensé le circuit de mesure électrique (§ 5.1.5) afin de limiter les effets antennes et les erreurs de mesure en introduisant de larges plans de masse et des composants d'impédance nominale de 50 Ω . Nous avons accru la précision de mesure en utilisant des étalons adaptés prenant en compte les éléments de raccord avec le dispositif. L'interface électrique (§5.2.1) conçue ne nécessite plus de wirebonding du fait de l'utilisation de connecteurs élastiques.
- Bien que nous n'ayons pas quantifié cet effet, il est connu que la température fait varier de manière importante la réponse du résonateur car les différents paramètres du matériau (coefficients de rigidités, piézoélectriques, diélectriques...) sont dépendants de cette grandeur [^{1, 2}]. Soderkvist et Hjort [³] ont évalué une sensibilité de $-52 \text{ ppm} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ pour un résonateur en GaAs (100) en mode de cisaillement d'épaisseur. Cette dépendance en température de la réponse du capteur est une étude complémentaire à mener et, dans cette optique, une enceinte régulée en température a été développée (§ 5.1.3).
- La caractérisation du dispositif résonant sous vide permet de s'affranchir des frottements visqueux induits par la couche d'air au voisinage de la membrane vibrante. il est aussi possible de travailler sous atmosphère contrôlée en introduisant un gaz inerte par exemple, ce qui peut s'avérer intéressant pour la caractérisation de certaines interactions. L'enceinte de test développée doit donc permettre de réaliser des interactions en vide ou sous atmosphère contrôlée (§ 5.1.2)

Nous avons donc conçu un banc de mesure et des interfaces capables de répondre à tous ces critères. Nous allons développer dans les deux prochaines parties les différents éléments de ce banc de mesure adapté à la caractérisation de biocapteurs résonants.

5.1.2 Enceinte sous vide intégrant un système de chauffage/refroidissement

Pour la caractérisation du résonateur, nous retrouvons différents systèmes permettant la mesure sous vide, sous gaz inerte et le contrôle en température. Ces systèmes vont de la simple cloche à vide régulée en température à des systèmes beaucoup plus complexes comme les cryostats utilisés pour les oscillateurs ultrastables, les performances de ces bancs n'étant bien sûr pas comparables.

Nous avons donc établi un cahier des charges pour la réalisation de notre enceinte. Nous souhaitons travailler sous un vide primaire (10^{-3} mbar) et à des températures comprises entre 15°C et 40°C. Bien que nos échantillons soient de petites dimensions, nous souhaitons pouvoir réutiliser ce montage pour d'autre dispositif et nous avons donc choisi de laisser un volume de travail suffisant pour pouvoir y intégrer au minimum un wafer de 4 pouces. Toujours avec la volonté de trouver une solution de réalisation à moindre coût, nous avons éliminé d'emblée les systèmes complexes.

Bien que d'autres solutions commerciales existent, comme une cloche thermostatée (Figure 5.3 A) ou une étuve avec des connections spécifiques pour le vide (Figure 5.3B), ces systèmes ne nous ont pas semblé suffisamment flexibles pour y intégrer notre dispositif.

A)



B)



Figure 5.3 – Enceintes commerciales sous vide et contrôlées en température : A) dessiccateur thermostatique sous vide Vacuo Temp B) Etuve à vide Heraeus Vacutherm 6025 [4] avec 2 connections iso DN 25.

Nous avons donc développé une enceinte spécifique permettant de travailler sous vide et possédant une régulation en température assurée par un bain thermostaté polystat 36 [5]. Ce bain à circulation permet de fonctionner sur une plage de température allant de -30°C à 150°C. Le fait de pouvoir refroidir l'enceinte est intéressant pour travailler à des températures inférieures à la température ambiante mais aussi pour refroidir l'enceinte plus rapidement que simplement par dissipation thermique vers l'extérieur, ce qui n'est pas possible avec les deux solutions présentées précédemment. Si l'enceinte est placée sous vide d'air, l'échange thermique ne pourra pas se faire

par rayonnement mais uniquement par conduction. L'enceinte et les supports ont donc été réalisés en aluminium afin d'assurer une bonne conduction thermique jusqu'au dispositif.

L'enceinte dispose d'une connexion DN40 pour permettre la mise sous vide ou l'introduction de gaz.

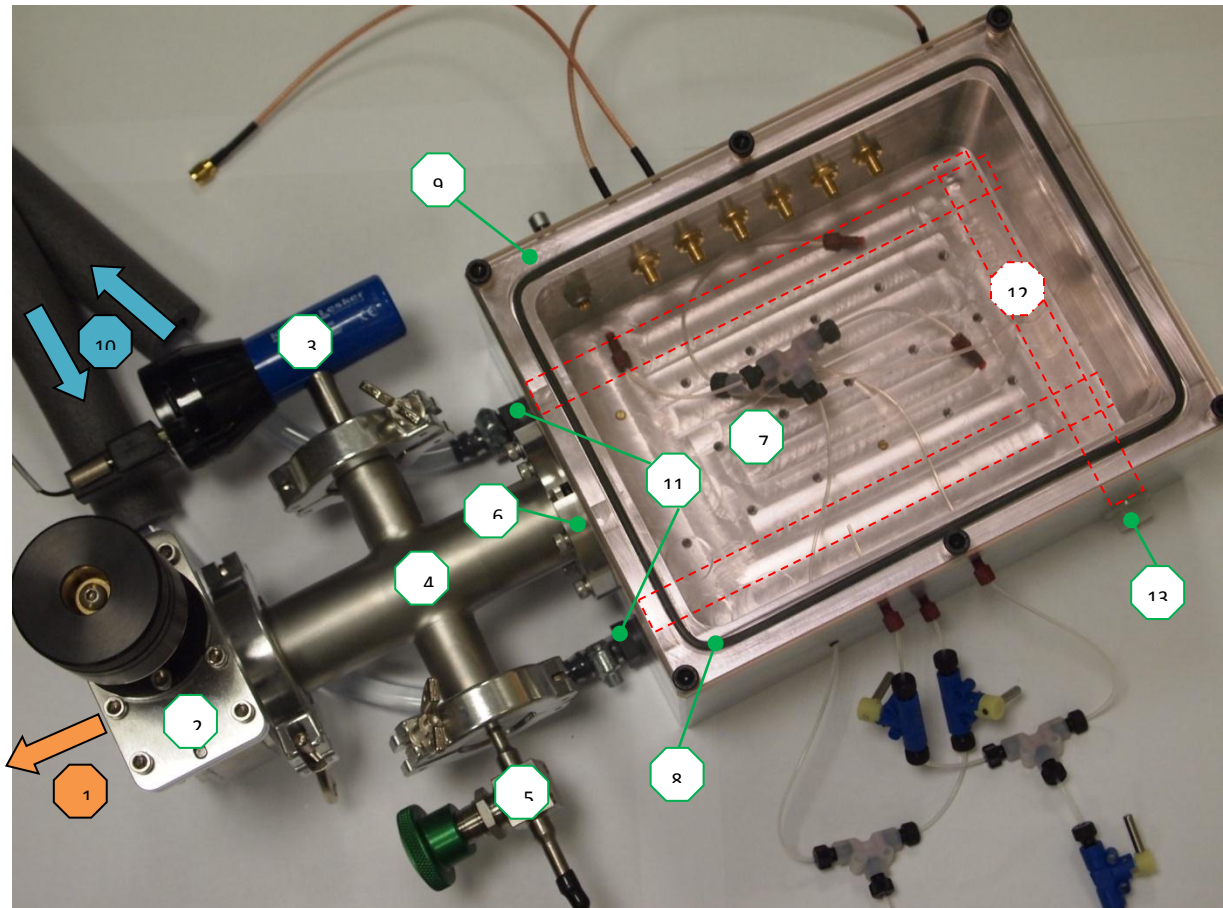


Figure 5.4 - Photo de l'enceinte sous vide et du système de chauffage : 1) extraction de l'air vers les pompes (DN40), 2) valve d'isolement de l'enceinte (DN40), 3) jauge de dépression (DN25), 4) croix (2 DN40, 2 DN25), 5) mise à l'air (DN 25), 6) fixation DN 40, 7) chambre à vide, 8) joint spécial vide, 9) couvercle, 10) circulation du fluide caloporteur provenant du cryostat, 11) connexions fluidiques G1/8, 12) circuit fluide d'échange thermique situé sous la surface de la chambre à vide, 13) bouchon pour circuit régulation thermique G1/8.

5.1.3 Régulation en température

Du fait de sa puissance calorifique, le cryostat permet de maintenir une température stable à l'intérieur de l'enceinte. Cependant, l'inertie thermique de la structure l'empêche de répondre rapidement à une variation de température. De plus, à cause des pertes avec le milieu environnant, il existe un biais entre la température du fluide caloporteur et celle du dispositif fixé dans l'enceinte. Il est donc nécessaire de connaître la température au plus près du capteur afin de pouvoir corréliser précisément la réponse du système avec la température.

Deux capteurs de température ont été envisagés, dont la précision et les dimensions sont compatibles avec notre application : un sonde PT100 SMD 0805 fabriqué par IST-AG [6] et un thermocouple RS 621-2142 [7]. Nous avons opté pour la sonde PT100 plus précise dont les caractéristiques sont données dans le tableau suivant :

| Modèle | Dimensions | Plage de mesure | Précision |
|----------|-------------------------|-----------------|--|
| SMD 0805 | 2 mm x 1.2 mm x 0.65 mm | [-50°C ; 150°C] | Classe A ($\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ à 37°C) |

Le système fonctionne alors en boucle ouverte : nous appliquons une consigne au cryostat et nous mesurons la température réelle sur le capteur. Nous avons imaginé introduire un circuit de régulation thermique supplémentaire afin de contrôler plus précisément la température. Ce circuit supplémentaire est composé d'un élément chauffant intégré près du capteur et contrôlé par un régulateur PID. Grâce au cryostat, nous travaillons autour d'une température de fonctionnement légèrement inférieure à celle désirée et le petit élément chauffant de faible inertie thermique assure l'ajustement autour de la température de consigne désirée.

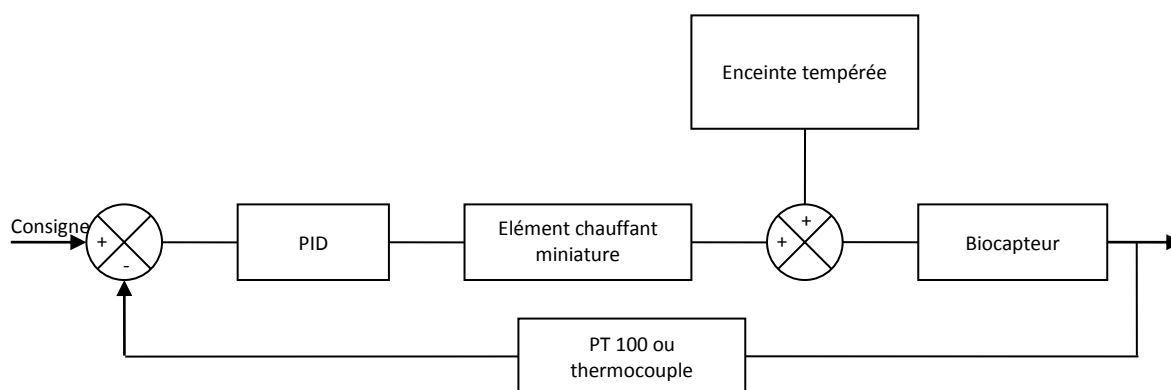


Figure 5.5 - Schéma de la régulation en boucle fermée

Le régulateur retenu est un régulateur REG24PTP1RHU de la gamme Zeliocontrol de Schneider electric [8]. Il permet de maîtriser la température du biocapteur en contrôlant l'élément chauffant miniature et en intégrant la mesure de la sonde de température. Le biocapteur reçoit un apport thermique à la fois de l'enceinte tempérée et de l'élément miniature. De plus, Il est possible d'interfacer ce régulateur avec un ordinateur grâce au bus de communication RS485 et un adaptateur RS485/USB.

Plusieurs éléments chauffants ont été répertoriés pour modifier localement la température. Nous retrouvons par exemple des systèmes de fils chauffants, des résistances de puissance ou

thermistance, des cartouches chauffantes ou des modules à effet peltier. Quelques exemples sont donnés dans la figure suivante :



Figure 5.6 - Quelques exemples d'éléments chauffants miniatures : A) Film flexible autocollant chauffant Minco [9], B) cartouche chauffante STEGO [10], C) cartouche chauffante DBK [11], D) module effet peltier Supercool [12] et E) résistance de puissance [7,12].

Ces petits systèmes permettent de réaliser une régulation thermique à moindre coût. Il est possible d'envisager d'utiliser un de ces dispositifs pour la régulation en température d'un système nomade à condition d'utiliser un régulateur PID plus adapté à cette application. Le schéma de régulation est alors identique à celui présenté Figure 5.5, la température à l'intérieur de l'enceinte étant remplacée par la température ambiante. Il faudra tout de même veiller à ce que la puissance du dispositif de chauffage soit suffisante pour tempérer le dispositif. Dans le cas où le système nécessite une régulation en dessous de la température ambiante, seul le module peltier est adapté car lui seul permet de refroidir le dispositif.

D'autres solutions peuvent aussi être envisagées comme la fabrication d'éléments chauffants obtenus par un dépôt de film de platine ou de constantan sur la cellule fluidique.

Par manque de temps, nous n'avons cependant pas pu réaliser cet asservissement en température ni intégré la mesure de température sur notre capteur. L'effet de la température sur le comportement de notre structure n'a pour le moment pas pu être validé mais cette mesure est envisagée à court terme.

5.1.4 Circuit fluidique

L'acheminement du liquide jusqu'à la zone sensible du capteur est réalisé grâce à un circuit fluidique. Une solution tampon est poussée par surpression à l'intérieur du circuit fluidique afin d'assurer la mise en circulation du fluide. Cette surpression est induite par l'apport contrôlé d'air comprimé provenant du compresseur grâce à la pompe mitos p-pump [13]. Ces variations de pression sont commandées et enregistrées à partir d'une interface utilisateur directement depuis l'ordinateur.

Une valve d'injection contenant une boucle de chargement va permettre d'introduire les différents fluides nécessaires aux interactions que nous souhaitons réaliser. A l'état initial, la valve ne joue aucun rôle dans le circuit fluidique, la solution tampon circule librement. Sans modifier ce fonctionnement, on vient introduire la solution à convoyer en chargeant une boucle fluidique de volume bien défini grâce à une seringue. On bascule ensuite la valve. La solution tampon est alors

déviée vers l'entrée de la boucle de chargement, poussant le liquide qu'elle contient jusqu'au lieu d'interaction. Quand l'injection se termine, nous pouvons rebasculer la valve dans sa position initiale. Il est alors possible de charger la boucle avec la solution suivante et de réitérer l'opération.

Le fluide à transporter est donc introduit au niveau de la valve d'injection et convoyé jusqu'à la partie sensible du capteur. Le fluide chemine au travers de capillaires jusqu'à une cellule fluidique qui assure une répartition homogène du fluide sur le ou les éléments sensibles du dispositif. Pour notre étude, nous avons décidé de travailler avec deux membranes vibrantes. Le schéma du dispositif contenant les deux membranes vibrantes et la cellule fluidique faisant face aux membranes est repris dans la Figure 5.8.

Le banc de mesure développé permet de réaliser alternativement des interactions fluidiques avec des mesures en temps réel puis des mesures en vide après avoir pris soin de vidanger le système fluidique. Le système intègre donc des passages de parois permettant d'acheminer le liquide dans la chambre à vide. Grâce au robinet, nous pouvons :

- Soit réaliser les interactions fluidiques : les robinets permettant l'accès à l'intérieur de la chambre à vide sont alors fermés,
- Soit réaliser les mesures en l'absence de fluide et sous vide ou gaz

Le système fluidique retenu est présenté sur la Figure 5.7. Les connecteurs fluidiques standards utilisés pour les passages de paroi mais aussi ceux utilisés sur les robinets et T sont compatibles avec une utilisation dans le vide.

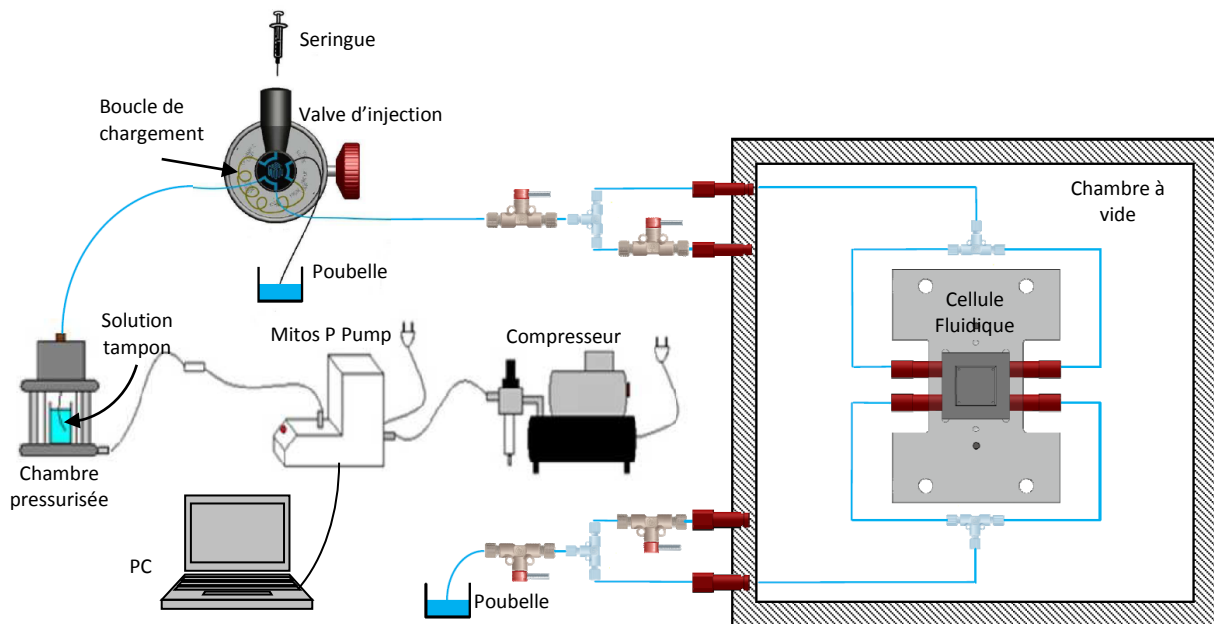


Figure 5.7 - Schéma du circuit fluidique complet : 1) Pompe (compresseur/mitos P-Pump/chambre pressurisée), 2) valve d'injection contenant une boucle de chargement permettant d'introduire divers liquides,

5.1.5 Circuit électrique

Le circuit électrique a dû être adapté afin de pouvoir mesurer les dispositifs à l'intérieur de la chambre à vide. Nous avons choisi d'utiliser des connecteurs SMA. Ces connecteurs coaxiaux RF ont une impédance nominale de $50\ \Omega$ et permettent des mesures électriques jusqu'à $17\ \text{GHz}$ [14].

L'interface électrique permettant de connecter notre dispositif au connecteur SMA est détaillé au paragraphe 5.3.1. Le câblage permettant de relier le dispositif à l'analyseur de réseau n'est pas sans influence sur la mesure. Si nous souhaitons obtenir une mesure correcte, il est nécessaire d'étalonner l'analyseur de réseau avec la même configuration que celle utilisée pour la mesure. Sur le même schéma, les étalons OPEN / SHORT / $50\ \Omega$ ont donc été câblés à l'intérieur de la boîte. De même, deux membranes sont testées par dispositif, il faut donc introduire deux lignes de mesure, une pour chacune des membranes. Le passage des lignes correspondantes aux étalons ou aux membranes se fait en connectant le passage de paroi correspondant avec le câble de liaison entre l'analyseur et la boîte.

De même, un connecteur multibroche étanche permet de relier le capteur de température ainsi qu'un éventuel système de chauffage miniature avec un circuit de contrôle externe.

5.2 Conception des interfaces fluidique et électrique

La réalisation des nouvelles interfaces nous a amené à standardiser les dimensions des échantillons. Nous travaillons maintenant sur des plaquettes carrées de GaAs (100) de $20\ \text{mm}$ par $20\ \text{mm}$ sur lesquelles sont intégrées deux membranes dont les dimensions et les propriétés sont identiques à

celles utilisées précédemment. Une cellule fluide vient s'ajuster en face de la plaquette de GaAs pour acheminer le liquide sur les éléments sensibles. Le réservoir de la cellule fluide est un carré de 12 mm de côté. Le capteur de température sera collé au centre des deux membranes.

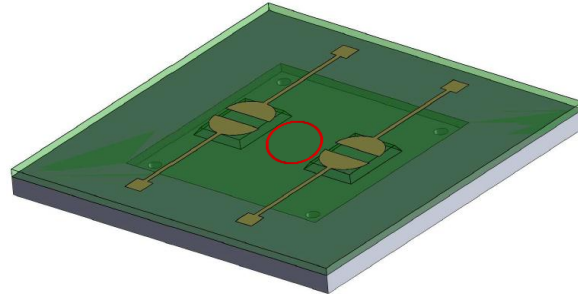
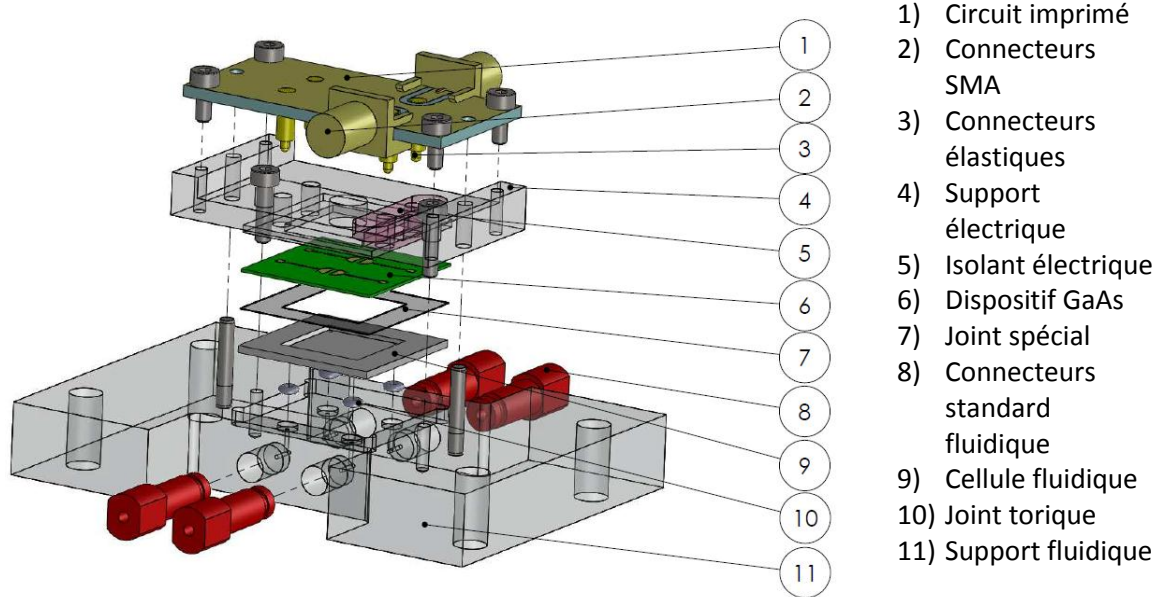


Figure 5.8 - Vue schématique d'une plaquette de GaAs (100) possédant deux membranes actives (pièce verte et transparente) et de sa cellule fluide associée (pièce grise). Le cercle rouge matérialise la zone de collage du capteur.

Le système conçu est présenté Figure 5.9. Le système développé utilise uniquement des contacts non permanents ce qui permet de changer de dispositif ou de cellule fluide facilement et rapidement. Le capteur et la cellule fluide sont insérés et comprimés entre le support fluide et électrique. Cette compression permet d'assurer à la fois le maintien du dispositif mais aussi d'assurer l'étanchéité en comprimant les joints. Les supports fluide et électrique sont en aluminium afin de conduire efficacement la température de la surface tempérée de l'enceinte de test vers le dispositif.

La mise en position est effectuée grâce à l'ajustement entre les dimensions du logement situé dans le support fluide et les dimensions extérieures de l'ensemble cellule fluide/dispositif. De même, le rebord du support électrique permet l'alignement de l'interface électrique par rapport à ce système.

A)



B)

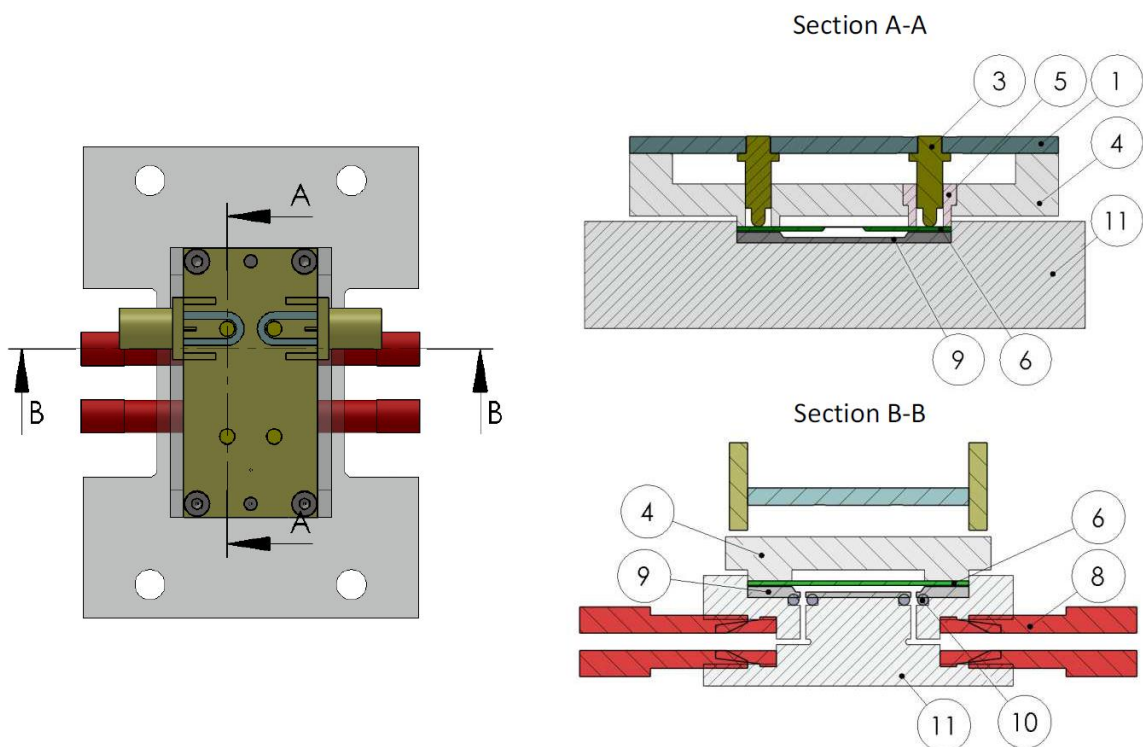


Figure 5.9 – Représentation schématique du véhicule de test : biocapteur GaAs (6) avec ces interfaces électriques (1 à 5) et fluide (7 à 11). A) vue éclatée et nomenclature, B) section au niveau des connexions élastiques (section A-A) et de la membrane et des entrées fluidiques (section B-B).

5.2.1 Interface électrique

L'interface électrique est composée de connecteurs SMA, d'un circuit imprimé et de connecteurs élastiques permettant le contact électrique non permanent entre la structure et l'interface. De ce fait, il n'est pas nécessaire de réaliser de bonding sur un circuit imprimé dédié avant de réaliser les mesures du dispositif.

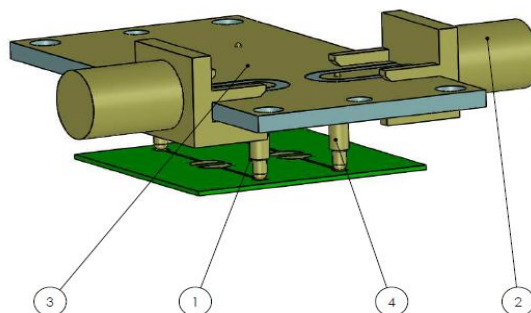


Figure 5.10 - Interface électrique du biocapteur : 1) biocapteur GaAs avec 2 membranes actives, 2) connecteurs SMA, 3) circuit imprimé et 4) connecteurs élastiques.

Toutes les précautions ont été prises dans la conception pour réduire les sensibilités au rayonnement et pour conserver une impédance de $50\ \Omega$ dans la ligne de transmission. L'isolation des connecteurs élastiques par rapport au support électrique est réalisée grâce à une pièce en téflon (Figure 5.9, pièce référencée 5).

Pour la calibration de la mesure, nous avons introduit dans le dispositif les trois étalons OPEN / SHORT / $50\ \Omega$. Ces trois étalons ont été réalisés sur un circuit imprimé :

- 2 plots au niveau des connecteurs élastique séparés par le diélectrique étant le circuit ouvert,
- 1 piste du circuit imprimé correspondant au circuit fermé
- 1 résistance de précision Vishay SMR1DZ [5] servant de charge $50\ \Omega$

L'interface de calibration et les composants utilisés sont strictement identiques à ceux choisis pour l'interface électrique du capteur. Il ne subsiste aucun biais entre l'étalonnage de l'appareil et la mesure de notre dispositif ce qui nous permet d'être confiant sur les valeurs mesurées de notre dispositif.

5.2.2 Interface fluide

Les Figure 5.7 et Figure 5.9 montrent la configuration du circuit fluide ainsi que le cheminement jusqu'à la cellule fluide en contact avec le capteur. Nous avons développé plusieurs configurations de cellule fluide :

- une adaptée au véhicule de test avec des passages permettant une arrivée du fluide perpendiculairement à la cavité et une liaison cellule fluide-capteur non permanente,
- l'autre permettant l'introduction du liquide via les côtés de la cellule fluide par l'intermédiaire d'aiguilles et dont la liaison avec le capteur est assurée par collage.

5.2.2.1 *Fabrication des cellules fluidiques*

Pour la réalisation de cellules fluidiques, nous avons opté pour l'utilisation de procédés simples et peu coûteux. La fabrication de ces dispositifs est assurée par des étapes de photolithographie et de gravure humide. Le silicium et une solution KOH ont été préférés pour la réalisation de ces dispositifs car

- ce procédé est bien connu et maîtrisé,
- la réaction est fortement anisotrope et laisse apparaître des plans d'arrêt (le plan (111)) qui nous seront très utiles par la suite
- les wafers de silicium sont bon marché (comparativement à l'AsGa)

De même que pour la gravure humide de l'arséniure de gallium, la gravure du silicium par voie humide nécessite de bien maîtriser les conditions de concentration, de température et d'agitation du bain. Bien sûr, suivant l'orientation cristalline du wafer, les formes et dimensions des motifs à réaliser vont varier. Le bain de gravure KOH concentré à 30% est chauffé à 55°, agité autour de 100tr/min et les échantillons sont orientés face vers le haut afin d'assurer une bonne évacuation des bulles.

5.2.2.2 *Cellule fluide adaptée au véhicule de test*

Bien que nous envisagions de réaliser les cellules fluidiques en silicium par des techniques de gravure humide, nous avons réalisé un premier prototype en aluminium afin de valider le véhicule de test conçu.

Un premier essai de mesure en liquide a été testé dans cette configuration. Nous avons pour cela testé une plaque de GaAs de 20 mm par 20 mm avec une configuration d'électrode identique au dispositif final mais où la gravure des membranes n'est pas réalisée. Le dispositif est donc une simple plaque de 350 μm d'épaisseur. Cependant, dès que nous avons positionné le résonateur dans notre montage, la vibration a été complètement atténuée par la présence du joint permettant l'étanchéité entre la cellule fluide et le capteur. Même en desserrant complètement le montage, le joint agit comme un amortisseur sur la face et la plaque ne vibre plus. Deux types de joint ont été testés, un en silicone, l'autre en paraffine. Le joint paraffine beaucoup plus fin que celui en silicone permet une réduction moins importante de la vibration mais le signal est tout de même atténué.

Pour pallier ce problème, nous avons utilisé une autre configuration où la cellule fluide est scellée avec le capteur par collage. De plus, une cavité de 25 μm de profondeur et de 12 mm par 12 mm de côté a été réalisée sur le dispositif de GaAs pour tenter de confiner la vibration. Bien que ces modifications aient induit une amélioration, l'onde vibratoire ne reste pas confinée dans la partie usinée. Le système de bridage induit une atténuation du signal et une baisse du coefficient de qualité.

Ce comportement est à vérifier dans le cas de la réalisation d'une membrane. On peut en effet espérer que la différence importante d'épaisseur entre le substrat et la membrane favorise le

confinement de l'onde dans la membrane. Dans le cas contraire, il sera nécessaire d'étudier une géométrie particulière de la membrane afin de ne pas transmettre l'onde au restant de la structure et/ou une méthode de fixation différente, comme par exemple placer les fixations sur un nœud de vibration, c'est-à-dire où le déplacement est nul.

5.2.2.3 Cellule fluide collée sur le capteur avec insertion de liquide par aiguille.

L'autre modèle de cellule fluide est intégré directement sur le capteur par collage ou par soudage anodique. L'acheminement du fluide vers la cellule est assuré par deux aiguilles collées. Les cellules sont constituées d'une cavité et de différents canaux :

- canaux d'entrée des aiguilles
- canaux « stop colle » empêchant la propagation de la colle vers la cellule fluide
- canaux permettant d'amorcer la découpe des cellules fluidiques du wafer par clivage.

Le plan (111) est un plan d'arrêt, c'est-à-dire sa vitesse de gravure est négligeable devant celle des autres plans. Il permet donc de réaliser des flans inclinés et notamment des sillons en V en alignant les canaux suivant la direction $\langle 110 \rangle$ [15]. Ces sillons sont par exemple utilisés pour la réalisation de canaux stop colle ou pour la réalisation de canaux de découpe. Pour les canaux d'entrée d'aiguille qui sont plus larges, nous avons opté pour former un sillon à fond plat afin de ne pas avoir à usiner trop profondément dans le wafer. La largeur du sillon est ajustée pour y insérer l'aiguille. La profondeur usinée est d'environ 300 μm afin que l'aiguille 32 G ($\varnothing 260\mu\text{m}$) puisse s'insérer dans le sillon aisément. La géométrie suivante est retenue :

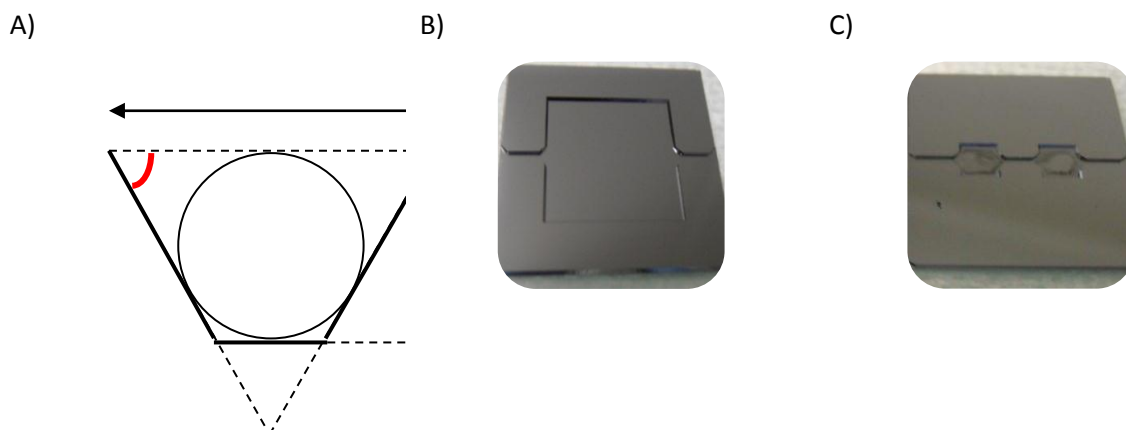


Figure 5.11 – Configuration des cellules fluidiques : A) Forme des sillons accueillant les aiguilles, B) cellules fluidiques composées d'une cavité de 12 mm de côté et c) cellule fluide composée de deux cavités s'intégrant en face des membranes de notre capteur

Plusieurs géométries ont pu ainsi être réalisées. Nous avons réalisé par exemple des cavités de 12 mm de côté avec deux canaux pour les aiguilles et différentes configurations de stop colle. D'autres cavités ont aussi été réalisées comme par exemple la réalisation de petite cellule fluide prenant place en face de membrane du capteur.

Pour étudier la propagation de liquide à l'intérieur de la cellule, nous avons collé une plaque de verre à la place du capteur par anodic bonding et observé la propagation du fluide dans la cellule. La figure ci-dessous reprend les différents stades du remplissage de la cavité par le fluide

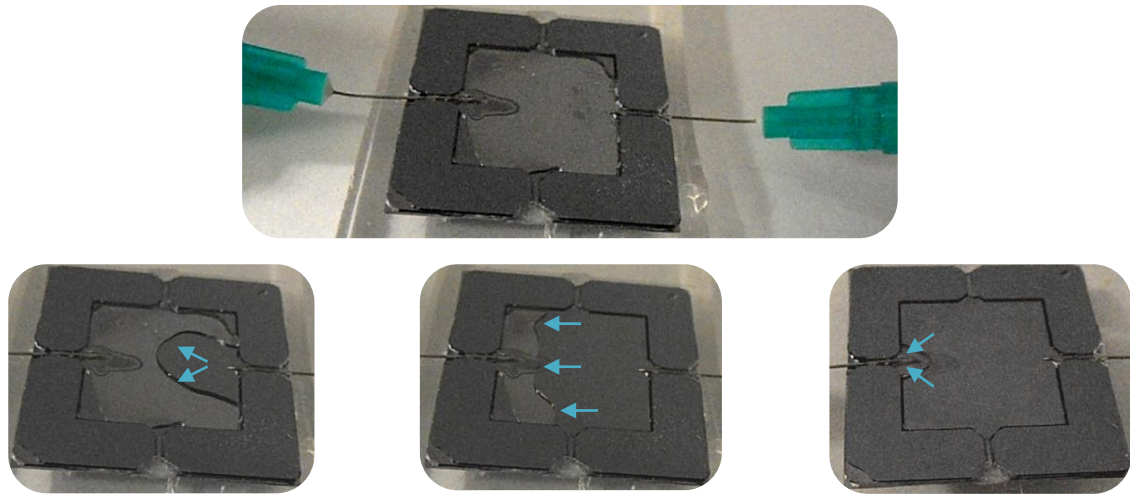


Figure 5.12 – Ecoulement du fluide dans la cellule fluide

D'après la série d'images précédente, nous voyons que le remplissage de la cellule est correct mais des bulles d'air ont parfois été piégées dans les coins pendant certains essais. De plus, il n'est pas dit que le fluide se déplace de façon très homogène sur le capteur car nous ne pouvons pas valider le bon remplissage de la cavité de la membrane.

L'acheminement du fluide a donc été repensé et a conduit à la géométrie présentée Figure 5.13. L'insertion du fluide dans la cellule fluide est répartie sur tout le pourtour de la cavité. Pour chaque canal d'insertion, la vitesse d'écoulement du fluide est identique car la longueur de canal pour arriver jusqu'à la cavité est la même quelque soit le parcours considéré (longueur équivalente donc résistance fluide équivalente). Il en est de même pour le circuit d'évacuation du liquide.

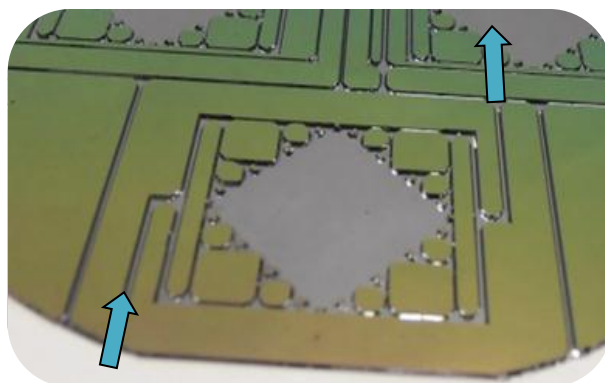


Figure 5.13 - Cellule fluide permettant un écoulement homogène du fluide dans la cavité. Les flèches bleues représentent la direction d'écoulement du fluide dans la cellule fluide.

Même si quelques problèmes d'écoulement persistent aux extrémités hautes et basses de la cellule, le fluide est bien mieux réparti dans la cellule fluïdique et l'écoulement semble homogène dans l'ensemble de la cavité.

Afin de pouvoir tester ce système sur notre banc de mesure, nous avons réalisé deux dégagements sur notre support fluïdique. Ces dégagements sont visibles sur la première photo de la Figure 5.14. Le système fluïdique à aiguilles d'injection a pu être intégré pour réaliser des tests en liquide. Les photos de la Figure 5.14 montrent le véhicule de test développé pour réaliser des analyses en milieu liquide dans l'enceinte tempérée (cf Figure 5.9).

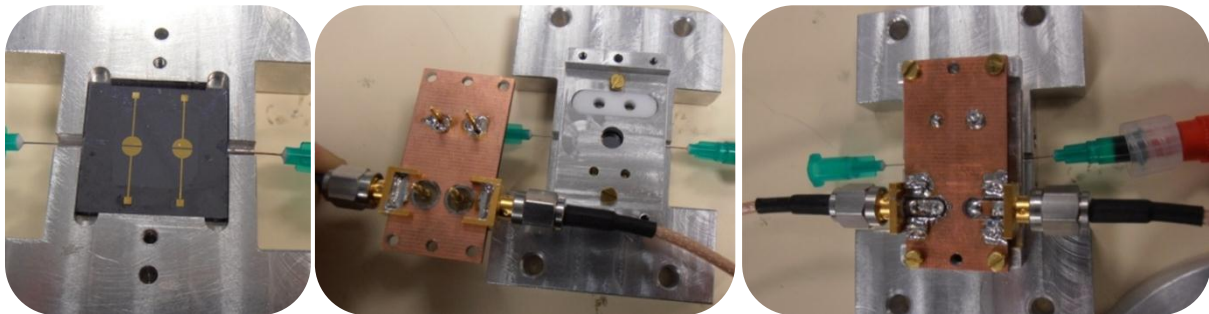


Figure 5.14 – Montage réalisé pour la caractérisation du dispositif résonant en arséniure de gallium.

5.2.2.4 Modélisation du circuit fluïdique

Afin d'estimer la sensibilité maximale espérée pour notre capteur, nous avons vu au chapitre 2 qu'il était nécessaire de connaître la pression exercée par le fluide sur la membrane pour déterminer l'épaisseur minimale permettant de réaliser les interactions biologiques sans risquer d'endommager la structure. Nous avons aussi estimé la pression minimale à appliquer à l'entrée du circuit fluïdique par le biais de ce modèle. Cette pression d'entrée minimale nous servira à déterminer expérimentalement les pertes de charges dues à la géométrie des éléments du circuit fluïdique par le biais de la résistance fluïdique du circuit, rapport du débit et de la pression. Ces pertes ne peuvent pas être prises en compte autrement.

Nous cherchons donc dans un premier temps à connaître la contrainte maximale exercée par le fluide sur la membrane. Il faut donc calculer la pression à l'intérieur de la cellule fluïdique grâce aux paramètres géométriques du circuit et à la pression de sortie du circuit (= Patm). Nous utiliserons le modèle de Bernoulli avec pertes de charges pour modéliser l'écoulement du fluide dans le circuit fluïdique.

$$\rho \frac{V^2}{2} + \rho g(z_2 - z_1) + p_2 - p_1 = -\Delta p \text{ avec } \left\{ \begin{array}{l} \rho = \text{masse volumique} \\ V = \text{Vitesse du fluide} \\ g = \text{gravité (9.81 m.s}^{-2}\text{)} \\ z = \text{hauteur} \\ p = \text{pression} \\ \Delta p = \text{perte de charge} \end{array} \right.$$

Avec ce modèle, nous ferons l'hypothèse que les fluides utilisés sont incompressibles. Pour les calculs, nous utiliserons l'eau comme fluide avec les paramètres suivant :

masse volumique : $\rho=1000 \text{ kg.m}^{-3}$

viscosité : $\eta=1.002.10^{-3} \text{ Pa.s}$ à 20°C

viscosité cinématique : $\nu = \frac{\eta}{\rho}$

Nous fixerons le débit maximal à $50 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ soit $8.33.10^{-10} \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$.

Nous utiliserons le modèle de cellule fluidique où l'acheminement du fluide se fait au travers des aiguilles 32G. Pour la modélisation, nous utiliserons l'équation du modèle de Bernoulli avec pertes de charges associées à chaque tronçon constitutif du circuit fluidique, simplifié suivant le schéma ci-dessous :

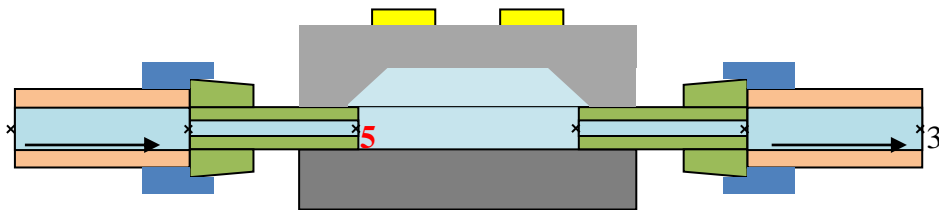


Figure 5.15 - Schéma utilisé pour la modélisation du circuit fluidique

Les paramètres géométriques associés à ce modèle seront :

| Segments | Description | Dimensions caractéristiques |
|----------|-------------------------------|---|
| 1 | Pompe | P_{pompe} |
| 1 -> 2 | Canaux + boucle chargement | $D_{int}=500\mu m$ $L=1m$ |
| 2 -> 3 | Aiguille 32G (entrée cellule) | $D_{int}=108\mu m$ $L=13mm$ |
| 3 -> 4 | Cellule fluidique | $L=12mm$ $l=12mm$ $e=0.3mm$ $S=l*e$ $D_h = \frac{4S}{P}$ $P=2*l+2*e$ |
| 4 -> 5 | Aiguille 32G (sortie cellule) | $D_{int}=108\mu m$ $L=13mm$ |
| 5 -> 6 | Canaux sortie | $D_{int}=500\mu m$ $L=0.5m$ |
| 6 | Poubelle | $P=P_{atm}$ $=1.01325Pa$ |

Remarque :

- Les longueurs des tronçons 1->2 et 5->6 sont les longueurs équivalentes, c'est-à-dire qu'elles tiennent compte de l'ensemble des canaux et des éléments (T, robinet, valve...) qui les constituent.
- D_h est le diamètre hydraulique, P le périmètre mouillé. Nous faisons l'approximation dans le calcul que la cellule fluidique est entièrement remplie et nous négligeons le volume de liquide contenu dans les cavités du capteur.

Nous calculons ensuite le nombre de Reynolds par la formule

$$Re = \frac{\rho V D}{\eta}$$

Et nous vérifions que l'écoulement est bien laminaire du fait que $Re \ll 2000$.

Nous estimons ensuite les pertes de charges :

- Pertes de charges systématiques dûes au frottement du fluide sur les parois du conduit ; Elles sont estimées à partir de la relation de Poiseuille. La relation suppose que le débit volumique est constant dans tout le circuit.

$$\Delta p = \frac{8q_v \eta L}{\pi \left(\frac{D}{2}\right)^4}$$

- Pertes de charge accidentelles : c'est la résistance à l'écoulement provoquée par les accidents de parcours (coudes, élargissement ou rétrécissement de section...etc...). Ces pertes ne peuvent pas être modélisées, elles devront être estimées expérimentalement en calculant la résistance fluide (ensemble des pertes de charge) du système, c'est-à-dire le ratio entre la pression en sortie de pompe et le débit volumique à la sortie du circuit. Il faudra bien entendu retrancher les pertes systématiques à la valeur obtenue. Nous ne les prendrons pas en compte dans notre calcul.

On applique ensuite le théorème de Bernoulli avec pertes de charge à chaque tronçon en partant du point 6 où la pression est connue (P_{atm}) et en remontant de tronçon en tronçon. Nous remarquons alors que la pression dans la chambre est déterminée uniquement par la résistance fluide de l'ensemble des canaux de sortie ainsi que du passage dans l'aiguille de 32G. Pour réduire la pression à l'intérieur de la chambre, il faudra modifier la sortie de la cellule fluide afin que les canaux soient les plus larges et les plus courts possible.

En considérant que la pression à l'intérieur de la cellule fluide est égale à la moyenne de la pression aux points 3 et 4 (faible pertes de charge dans la cellule), on obtient une pression à l'intérieur de la cellule fluide de 104 850 Pa, soit une pression relative de :

$$P_{fluide \rightarrow membrane} = 3525 \text{ Pa}$$

Nous avons ici négligé l'effet du poids du fluide en considérant que la membrane ne supportait pas le fluide, comme présenté Figure 5.15. Même si nous le prenons en compte, il reste négligeable (3 Pa). Ce résultat nous permet de déterminer l'épaisseur minimale de la membrane pour qu'elle résiste aux sollicitations mécaniques. Notons de même que la surpression minimale à apporter par la pompe pour la mise en mouvement du fluide est de :

$$P_{pompe} = 7322 \text{ Pa soit } 0.07 \text{ bar}$$

5.2.3 Interfaces pour application nomade

Le circuit fluide encombrant (section 5.1.4) présente l'inconvénient de limiter le degré de miniaturisation, la portabilité et le faible prix du dispositif qui sont des propriétés indispensables des

biocapteurs piézoélectriques. La solution de cellule fluide simplement collée sur le capteur avec une insertion du liquide par de simples aiguilles peut être une solution adaptée pour l'intégration de ce dispositif. En effet, les arrivées de liquide peuvent se faire simplement grâce à une injection avec une seringue à embouts Luer.

L'interface électrique que nous avons conçue est adaptée pour l'analyse du système résonant par l'intermédiaire d'un analyseur de réseau. Le conditionnement électrique du capteur en vue d'une application nomade sera complètement différent [16, 17] et nécessitera une refonte de cette interface.

Pour la mesure d'interaction biologique, il est la plupart du temps nécessaire de travailler à température contrôlée. La réponse du capteur est aussi dépendante de la température et il est donc nécessaire d'intégrer un système de régulation thermique au sein du dispositif. Des éléments de ce type peu onéreux et de faibles dimensions ont été présentés dans la section 5.1.3. En plus de ces systèmes, il est possible d'envisager un système de chauffage intégré sur la cellule fluide grâce à un simple dépôt et à une étape de photolithographie. La régulation est alors assurée grâce à une électronique adaptée et une mesure directe de la température. Il faudra aussi adapter le conditionnement de l'ensemble (capteur, cellule fluide, circuit électrique) afin de limiter les échanges thermique mais aussi le bruit de mesure induit par le milieu environnant.

5.3 Premiers essais réalisés sur des résonateurs à membranes

Nous avons vu précédemment que la fréquence de résonance dépendait essentiellement de l'épaisseur de la membrane et de la vitesse de propagation de l'onde qui elle dépendait des caractéristiques du matériau.

Afin de valider ce comportement, nous avons testé différentes épaisseurs de membrane (100 μm , 50 μm et 30 μm) dont la configuration est celle retenue au chapitre 2 : membrane (100) de 4 mm par 3 mm sur laquelle sont déposées des électrodes orientées <011>, de diamètre 2.8 mm et distante d'un intervalle de 0.8 mm. Nous avons aussi testé la réponse du substrat non usiné (épaisseur théorique de 350 μm) et du substrat aminci (au alentour de 200 μm).

5.3.1.1 Valeurs théoriques

En utilisant le modèle de Butterworth Van Dyke et les expressions mathématiques associées à ce modèle (Figure 5.16), nous avons estimé les valeurs théoriques de chaque composant ainsi que les fréquences de résonance et les facteurs de qualité associés (en prenant un coefficient viscoélastique de 10^{-2}).

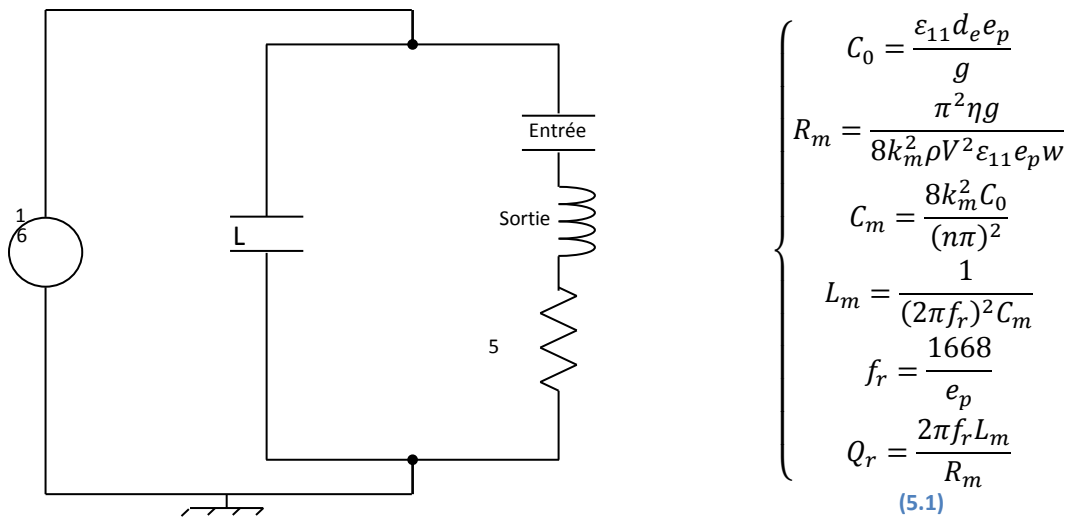


Figure 5.16 - Schéma électrique équivalent de Butterworth Van Dyke et expressions théoriques de la capacité statique, des paramètres motionnels, de la fréquence de résonance et du coefficient de qualité

Le Tableau 5.1 reprend l'ensemble des valeurs calculées.

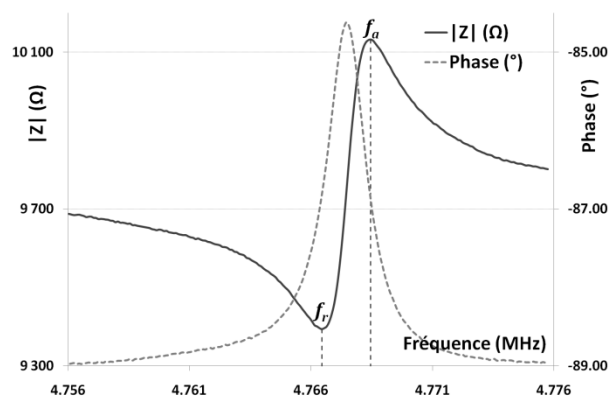
| E_p (μm) | C_0 (fF) | C_m (aF) | R_m (Ω) | L_m (H) | $ Y _{\max}$ (mS) | f_r (MHz) | F_a (MHz) | Q_r |
|----------------------------|------------|------------|--------------------|-----------|-------------------|-------------|-------------|--------|
| 350 | 119 | 420 | 373 | 2.6501 | 27 | 4.7657 | 4.7741 | 212540 |
| 200 | 68 | 240 | 653 | 1.5143 | 1.53 | 8.34 | 8.3547 | 121450 |
| 100 | 34 | 120 | 1306 | 0.7572 | 0.76 | 16.68 | 16.7094 | 60726 |
| 50 | 17 | 60 | 2613 | 0.3786 | 0.38 | 33.36 | 33.4188 | 30363 |
| 30 | 10.2 | 36 | 4355 | 0.2271 | 0.23 | 55.6 | 55.6981 | 18218 |

Tableau 5.1 - Valeurs théoriques des différents composants du circuit de Butterworth Van Dyke, de l'admittance maximale, des fréquences de résonances et du facteur de qualité.

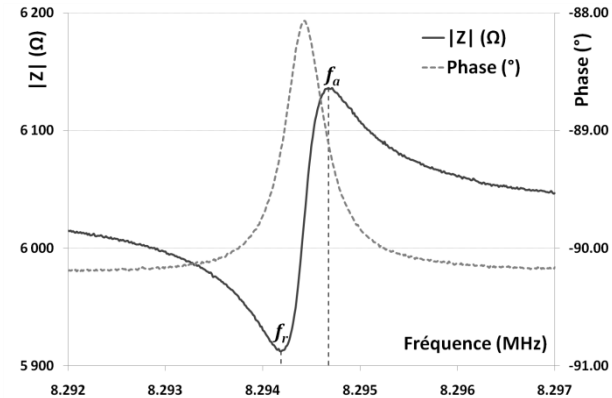
5.3.1.2 Mesures expérimentales

La Figure 5.17 reprend les tracés d'amplitude et de phase d'impédances obtenus pour les différentes épaisseurs testées. Le Tableau 5.2 donne les valeurs mesurées et déduites des mesures pour les différents résonateurs.

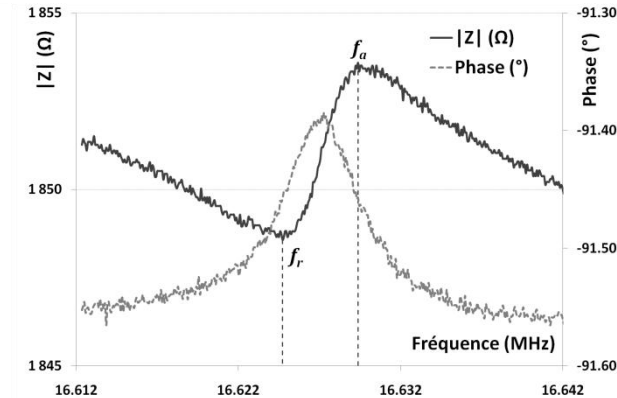
A) $e_p \approx 350 \mu\text{m}$



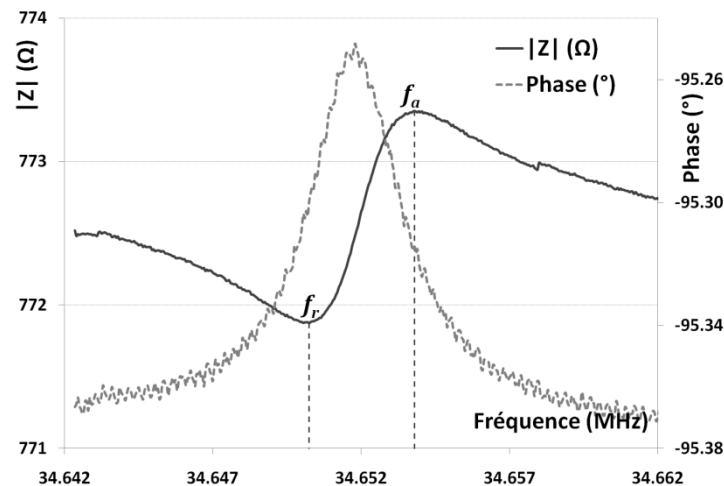
B) $e_p \approx 200 \mu\text{m}$



C) $e_p \approx 100 \mu\text{m}$



D) $e_p \approx 50 \mu\text{m}$



E) $e_p \approx 30 \mu\text{m}$

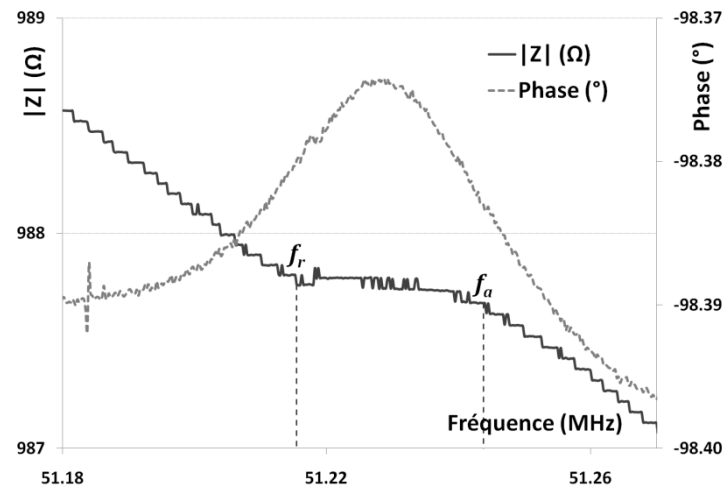


Figure 5.17 – Tracés du module et de la phase de l'impédance des dispositifs autour de leurs fréquences de résonance respectives en mode de cisaillement d'épaisseur (mode fondamental). L'épaisseur est donnée à titre indicative et ne correspond pas à l'épaisseur réelle de la membrane.

| E _p th (μm) | Valeurs mesurées | | | | | | | Valeurs déduites | | | | |
|---------------------------|---|----------------------------|----------------------------|---------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | <i>f_r</i> (MHz) | <i>f_a</i> (MHz) | <i>Δf_r</i> (Hz) | <i>Δφ</i> (°) | <i>R_m</i> (Ω) | <i> Y _{max}</i> (μS) | <i>e_p</i> (μm) | <i>Q_r</i> | <i>L_m</i> (H) | <i>C_m</i> (fF) | <i>C_o</i> (pF) | <i>k_m</i> (%) |
| 350 | 4.7664 | 4.7684 | 1870 | 4.36 | 9393.23 | 106.46 | 349.95 | 2549 | 0.80 | 1.39 | 1.66 | 3.22 |
| 200 | 8.2941 | 8.2946 | 500 | 2.13 | 5912.46 | 169.13 | 201.10 | 16588 | 1.88 | 0.20 | 1.66 | 1.20 |
| 200(3) | 24.929 | 24.931 | 1000 | 0.118 | 2004.49 | 498.88 | 200.73 | 24929 | 0.32 | 0.13 | 0.92 | 1.31 |
| 100 | 16.624 | 16.629 | 5000 | 0.180 | 1848.57 | 540.96 | 100.33 | 3325 | 0.06 | 1.56 | 2.78 | 2.63 |
| 50 | 34.650 | 34.653 | 2920 | 0.124 | 771.87 | 1295.55 | 48.14 | 11866 | 0.04 | 0.50 | 2.45 | 1.59 |
| 30 | 51.237 | 51.26 | 13300 | 0.024 | 987.2 | 1012.93 | 32.55 | 3852 | 0.01 | 0.82 | 0.93 | 3.29 |
| (5.2) | $e_p = n \frac{1668}{f_r}, Q_r = \frac{f_r}{\Delta f_r},$ $R_m = Z _{min}, L_m = \frac{Q_r R_m}{\omega_r}, C_m = \frac{1}{\omega_r^2 L_m},$ $C_0 = \frac{C_m}{\left(\frac{f_a^2}{f_r^2} - 1\right)}$ $k_m^2 = \frac{\pi^2}{4} \frac{f_a - f_r}{f_a}$ | | | | | | | | | | | |

Tableau 5.2 – Valeurs des éléments du circuit équivalent de BVD calculées à partir des mesures d'impédances en utilisant les formules (5.2).

Les fréquences de résonance des dispositifs sont légèrement différentes de celles estimées en théorie mais valident tout de même l'étude analytique et les simulations FEM réalisées. En effet, l'écart entre les valeurs mesurées et les valeurs théoriques s'expliquent par des épaisseurs de membrane différentes de celles escomptées. Le clivage des membranes a permis de vérifier l'épaisseur en mesurant au microscope optique les membranes réalisées. Cependant, la mesure n'est pas suffisamment précise pour qu'on puisse estimer très finement l'épaisseur des membranes. Il convient cependant de considérer que les fréquences obtenues sont en accords avec les mesures d'épaisseurs réalisées suivant la relation fournie au chapitre 2. Par exemple, la fréquence de résonance obtenue sur la courbe Figure 5.17 E (51.2155MHz) correspond à une épaisseur de membrane de 32.5 μ m alors que nous souhaitions réaliser une membrane de 30 μ m d'épaisseur. Nous avons en effet choisi de ne pas réaliser de témoin d'épaisseur sur ces échantillons afin de simplifier le protocole et de réaliser un contrôle de gravure uniquement par maîtrise du temps. De plus, la régulation en température était obtenue par de la glace fondante ce qui ne permet pas, comme nous l'avons dit dans le chapitre 3, le meilleur contrôle. Cependant, l'usinage de trois dispositifs simultanément a permis d'obtenir des fréquences de résonance très proches (34.59525 MHz, 34.41556 MHz; 34.65025 MHz), soit une variation maximale de $\Delta f=0.23$ MHz. L'usinage est donc suffisamment reproductible pour espérer obtenir une précision à ± 1 μ m car cet écart de fréquence correspond à un écart de 0.3 μ m sur l'épaisseur. Nous avons présenté les spectres d'impédances autour de la fréquence au fondamental mais il est aussi possible de travailler avec d'autres rangs de partiel du mode de cisaillement. Pour les membranes de 50 μ m et de 30 μ m, nous arrivons avec difficulté (4 balayages et temps d'intégration important, environ 30 sec pour tracer le spectre de 401 points) à retrouver l'harmonique 3 mais le cinquième semble inaccessible. La figure ci-dessous montre les pics de résonance autour de l'harmonique 3 du mode de cisaillement pour le substrat aminci. La fréquence de résonance mesurée est 3 fois supérieure à celle observée pour l'harmonique fondamentale, en accord avec la formule 2.60.

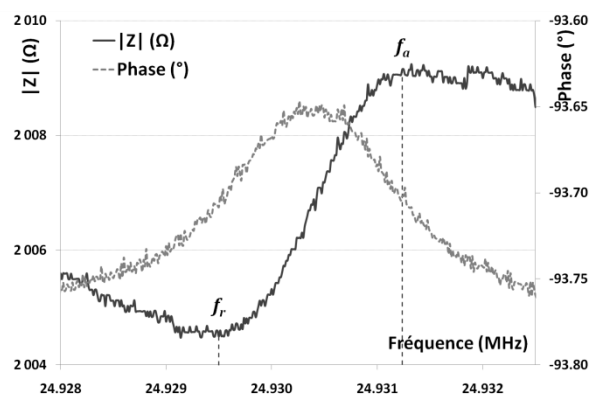


Figure 5.18 - Impédance autour des fréquences de résonance et d'antirésonance du partiel 3 du substrat aminci.

Quelque soit la courbe observée, les écarts d'amplitudes relevés entre les fréquences d'antirésonance et de résonance sont faibles. Pour le substrat non usiné ou pour le substrat aminci, amplitude du pic de résonance en impédance (plusieurs centaines d'ohm entre le sommet du pic et la ligne de base) est suffisamment importante pour pouvoir distinguer le signal. Pour les membranes,

nous voyons que cette amplitude est si faible (une dizaine d'Ohm pour une épaisseur de 100 μm , quelques ohms pour 50 et 30 μm) qu'il est compliqué de distinguer clairement le pic sur le tracé d'amplitude, noyé dans le bruit de mesure. Dans tous les cas, l'amplitude du pic de résonance est beaucoup plus faible que celle obtenue par la théorie, et ce de plusieurs ordres de grandeurs.

La faible amplitude de ce pic a certainement plusieurs causes :

1/ Nous avons considéré théoriquement que le coefficient viscoélastique du GaAs était de $\eta=10^{-2}$ et nous avons montré au chapitre 2 son effet sur l'amplitude du signal à la résonance (Figure 2.21). Nous n'avons trouvé aucune valeur numérique pour cette constante dans la littérature. Elle pourrait être plus élevée mais, il n'est pas concevable que l'atténuation soit due uniquement à ce facteur car le coefficient estimé serait alors incohérent avec celui d'un matériau organisé comme le GaAs.

2/ La présence d'une couche amorphe sur quelques μm , due au polissage mécanique du wafer que nous n'avons pas retirée pour ces essais peut nuire à la génération et à la détection de l'onde acoustique. Dans les prochains essais, nous veillerons à retirer cette couche (phase 02 du protocole de fabrication établie au paragraphe 3.5.2). Notons aussi que les coefficients de couplage déterminés expérimentalement sont plus faibles que prévus (entre 1.2 et 3.3%) ce qui va dans le même sens.

3/ L'atténuation peut provenir aussi d'un mauvais contact entre le GaAs et les électrodes. Dans notre schéma équivalent, nous avons utilisé le modèle de Butterworth Van Dyke qui ne prend pas en compte la résistance d'accès aux électrodes. Cette résistance est prise en compte dans le modèle de Butterworth Van Dyke modifié. Les valeurs plus élevées et non cohérentes de la capacité statique sont en accord avec cette hypothèse car nous voyons que ce paramètre ne varie pas proportionnellement à l'épaisseur.

4/ La fixation du résonateur sur la maquette de test induit une atténuation prononcée du signal [¹⁸]. Nous avons fixé notre résonateur avec un point de colle sur le substrat. Or lors des mesures d'impédances en balayant largement en fréquence, nous avons observé pour une fréquence correspondant à l'épaisseur non aminci du substrat un pic de désésonance sur le mode de cisaillement d'épaisseur. Cela signifie clairement que l'énergie n'est pas piégée dans la membrane.. Les zones non usinées du substrat étant fixées, il s'opère un amortissement de la vibration aussi bien au niveau de la zone encastrée qu'au niveau de la membrane.

Il s'en suit que les coefficients de qualités mesurés sont plus faibles que ceux escomptés et varient sans vraiment suivre le comportement attendu. Ces variations peuvent être induites par des défauts lors de la fabrication de la membrane. Nous avons tout de même mesuré un coefficient de qualité de 12000 pour l'échantillon de 50 μm d'épaisseur, ce qui est cohérent avec celui estimé par la théorie. Notons que ces mesures ont été répétées sous vide et nous n'avons pas obtenu un meilleur coefficient de qualité. L'amortissement par l'air n'est donc pas la cause de la chute du coefficient de qualité.

De même que l'amplitude du pic du module de l'impédance, le déphasage est très faible pour toutes les courbes présentées. Il est de l'ordre de quelques degrés pour des résonances du substrat brut (noté « Bulk ») ou du substrat aminci et de l'ordre du dixième de degré pour les autres courbes ce qui traduit une fois de plus le fort amortissement de l'onde.

Ces faibles amplitudes sont problématiques car l'ajout du liquide sur la membrane (dépôt d'une goutte sur la membrane) provoque une extinction des pics de résonance et d'antirésonance. Bien que notre dispositif soit adapté à des mesures en liquide, nous voyons qu'il n'est plus possible de visualiser les pics de résonance pour les membranes de 50 et 30 μm . A partir d'une épaisseur de 100 μm , nous avons pu observer en milieu liquide les pics de résonance mais l'amplitude est si faible que le suivi du pic pour une faible variation de masse ou de viscosité n'est pas possible.

D'après ces mesures, nous avons pu valider le comportement de notre résonateur avec des fréquences de résonance en cohérence avec celles estimées aux chapitres 2. Cependant, les amplitudes des mesures et les coefficients de qualité ne semblent pas suffisants pour espérer obtenir une bonne sensibilité de détection. Nous chercherons donc à améliorer cette réponse par la suite en travaillant avec un espacement inter électrode plus étroit afin d'accroître l'intensité du champ électrique entre les électrodes et de ce fait l'amplitude du mouvement, en accord avec la figure 2.12 B. La modification du protocole devrait aussi permettre d'obtenir une amplitude plus importante grâce à la suppression de la couche amorphe en surface du capteur.

5.4 Caractérisations « en bulk »

Les mesures sur membranes ayant soulevées beaucoup d'interrogations et pour éviter des couplages entre la membrane et le substrat non aminci, nous avons décidé de travailler directement sur le « bulk » pour valider le comportement de notre dispositif. Les essais suivants sont donc réalisés sur des substrats de $350 \pm 25 \mu\text{m}$ d'épaisseur. La configuration d'électrodes retenue est identique à celle utilisée précédemment mais leur espacement a été réduit à 0.2 mm. De même, nous avons retiré la couche amorphe de GaAs avant de déposer les électrodes.

Nous avons réalisé plusieurs tests sur ces dispositifs. Le premier consiste à mesurer le comportement du résonateur à l'air. Le second essai met en évidence le comportement du dispositif en présence de différents fluides de viscosités différentes. Le dernier montre le décalage en fréquence induit par un ajout d'une masse. Les connexions électriques sont réalisées par l'intermédiaire de l'interface présentée dans la section 5.2.1. Le résonateur est laissé libre en appui sur une surface plane.

5.4.1 Mesure en air

Les relevés du module et de la phase de l'admittance autour de la fréquence de résonance au fondamental sont donnés dans la Figure 5.19. Nous avons pu visualiser sur ce dispositif le fondamental mais aussi tous les rangs de partiel jusqu'au 7^{ème}, nous n'avons pas poursuivi après. Lors de ces essais, nous avons pu observer des amplitudes bien plus importantes que les précédentes ce qui montre l'effet d'amortissement de la couche amorphe. Le déphasage observé est de 110° et

l'écart entre la courbe de la capacité statique et le sommet du pic de résonance est de $38 \mu\text{S}$ ce qui correspond à une différence en impédance de 26315Ω . La valeur maximale de R_m est élevée (16200Ω) par rapport à la résistance théorique, ce qui signifie que le système subit beaucoup de pertes. Le facteur de qualité est élevé et égal à 50 000 mais reste bien inférieur au théorique ($Q_{th}=212500$), ce qui laisse supposer que le dispositif subit plus de pertes que ce que nous avons estimé (coefficient viscoélastique $10^{-2} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

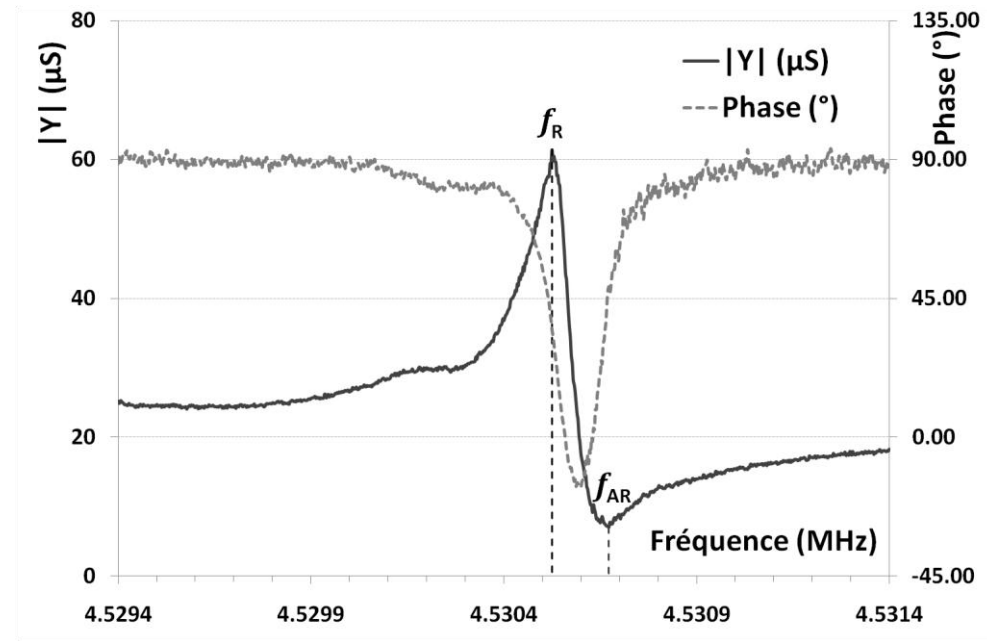


Figure 5.19 - Mesure d'impédance prenant en compte les modifications apportées au protocole : substrat avec couche amorphe retirée sur lequel sont déposées des électrodes orientées <011>, de dimension $\varnothing 2.8\text{mm}$ et distantes de 0.2mm.

| | Valeurs mesurées | | | | | Valeurs déduites | | | | | | |
|----------------|------------------|----------------|----------------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------|------------|--------------|---------------|---------------|--------------|
| | f_r (MHz) | f_a (MHz) | Δf_r (Hz) | $\Delta \varphi$ (°) | $ Y _{max}$ (μS) | R_m (Ω) | e_p (μm) | Q_r | L_m (H) | C_m (fF) | C_o (pF) | k_m (%) |
| Expérimentales | 4.530 525 | 4.530 6725 | 80 | 110 | 61.39 634 | 16287 | 368 | 56631 | 32.4 | 38.1 | 0.585 | 0.896 |
| Théoriques | 4.532 6 | 4.540 8 | 20 | 180 | 10000 | 88.77 | 368 | 22347 0 | 0.7 | 1.77 | 0.501 | 6.66 |

Tableau 5.3 – Mesures et estimation des différents paramètres du résonateur non chargé

L'écart entre les amplitudes des deux pics est cependant moins marqué que prévu et le coefficient de couplage calculé est de 0.9% est inférieur à celui attendu. Les valeurs de C_0 obtenues pour différents échantillons identiques sont comprises dans un intervalle de 0.533 ± 0.09 pF, ce qui est assez proche de la valeur théorique de 0.501 pF. Même si cette valeur de C_0 est correcte, il n'est pas sûr que les contacts entre GaAs et électrodes soient optimisés car la valeur de R_m est trop forte.

5.4.2 Résonateur chargé sur une face par un liquide

Nous avons ensuite procédé à un essai en milieu liquide en mettant en contact la surface avec ce milieu. Nous avons testé deux solutions de viscosités et de densités différentes, de l'eau désionisée ($\eta = 0.001$ Pa.s, $\rho = 1000$ kg.m⁻³) et du glycérol ($\eta = 1.49$ Pa.s, $\rho = 1260$ kg.m⁻³). Nous avons comparé les réponses du capteur en air ($\eta = 2.10^{-5}$ Pa.s, $\rho = 1$ kg.m⁻³, négligeable devant les autres facteurs) et en contact avec de l'eau puis du glycérol. Nous voyons sur les tracés du module et de la phase de l'admittance (Figure 5.20) que leurs amplitudes varient lors de la mise en contact avec le liquide. Cette variation d'amplitude s'accompagne aussi d'une variation de fréquence (Tableau 5.4).

D'après ces tracés, nous pouvons voir que la résonance est toujours présente malgré la présence de liquide sur la surface. La présence du liquide sur la surface atténue la résonance, le module maximal de l'impédance passe alors de 31 μ S à 23 μ S et 20 μ S respectivement pour l'eau et le glycérol. De même l'amplitude du déphasage diminue en passant progressivement de -70° à -21,7° et -18° respectivement pour l'eau et le glycérol. Si on compare ces valeurs avec les couples (ρ , η), nous voyons que les résultats que nous avons obtenus sont cohérents du fait qu'une augmentation de viscosité et de densité d'une couche épaisse au contact de la surface atténue la vibration.

Comme annoncée dans la bibliographie [¹⁹, ²⁰], nous observons bien un décalage de la fréquence de résonance en même temps qu'une atténuation du signal. Cependant, la mesure en air, dont la fréquence de résonance devrait présenter la plus haute fréquence, se situe étonnamment entre les deux courbes d'eau et du glycérol. Ces deux autres courbes ont, quant à elles, le comportement espéré. Ceci peut être dû au fait que nous avons déposé une couche plus importante.

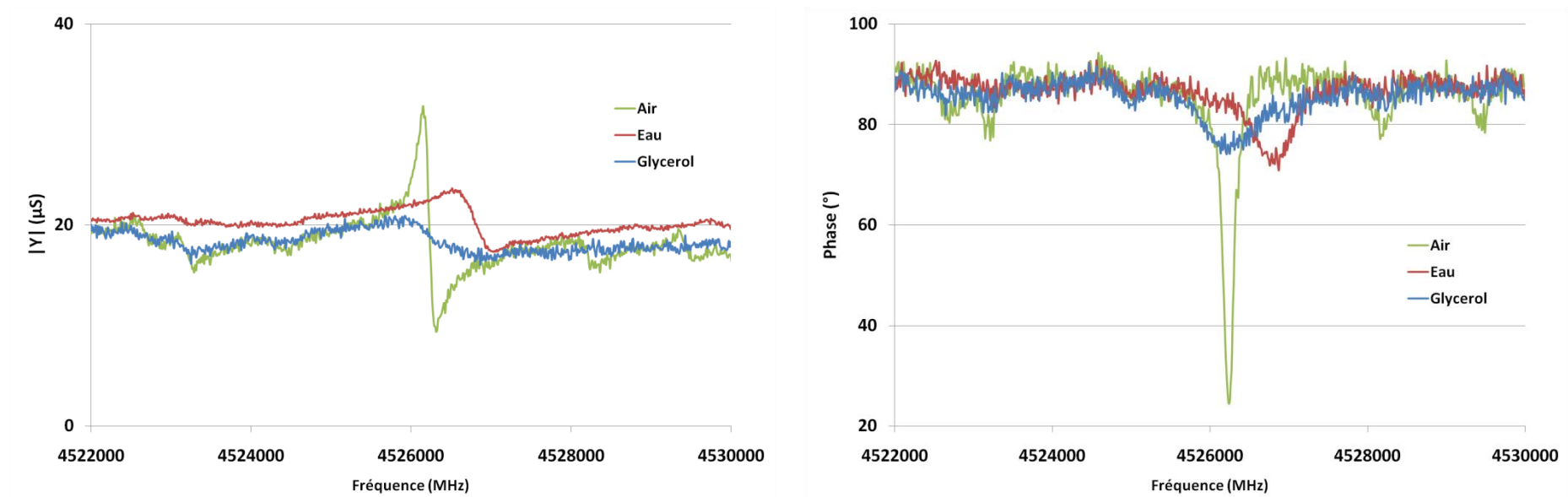


Figure 5.20 - Module et phase de l'admittance du résonateur en air, en contact avec de l'eau puis du glycérol sur une face : en vert, résonateur non chargé ; en rouge, résonateur chargé en eau et en bleu, résonateur chargé en glycérol.

| Couche | f_r (MHz) | f_a (MHz) | $\Delta f_{\text{liquide-air}}$ (Hz) | Q_r | $ Y _{\text{max}}$ (μS) | $ Y _{\text{min}}$ (μS) | $\Delta Y_{\text{liquide-air}}$ (μS) | ΔY (μS) | $\Delta \phi$ (°) |
|----------|-------------|-------------|--------------------------------------|-------|--------------------------------|--------------------------------|---|------------------------|-------------------|
| Air | 4,52615 | 4,52631 | 0 | 30790 | 31,84075 | 9,375221 | 0 | 22,465529 | -69,88573 |
| Eau | 4,5265125 | 4,5270375 | 362,5 | 11316 | 23,64139 | 17,34556 | 8,19936 | 6,29583 | -21,72496 |
| Glycérol | 4,525925 | 4,5268625 | -225 | 9051 | 20,89194 | 16,03234 | 10,94881 | 4,8596 | -18,03871 |

Tableau 5.4 – Caractéristiques du résonateur ayant une face en contact de l'air, de l'eau et du glycérol

Nous avons réalisé une mesure supplémentaire en déposant des couches de glycérol plus ou moins épaisse sur la surface d'un même échantillon. Là encore, nous observons à la fois une variation des amplitudes de la phase et du module de l'admittance et qui sont corrélés avec un décalage fréquentiel. Cette fois, tous les signaux évoluent dans le sens escompté, c'est-à-dire que plus la couche est épaisse, plus la l'amplitude de la réponse sera faible et plus le décalage vers les basses fréquences sera important. Nous voyons de plus ici qu'il n'y a quasiment pas de différences sur l'amplitude en phase ou en module pour les courbes ayant une couche de glycérol moyenne ou épaisse mais que nous observons tout de même un décalage des fréquences de résonance de ces deux signaux. Il semblerait donc que l'effet visqueux de la couche ne soit pas plus prononcé pour la couche épaisse et que le décalage en fréquence s'explique par le volume plus important de glycérol déposé à la surface.

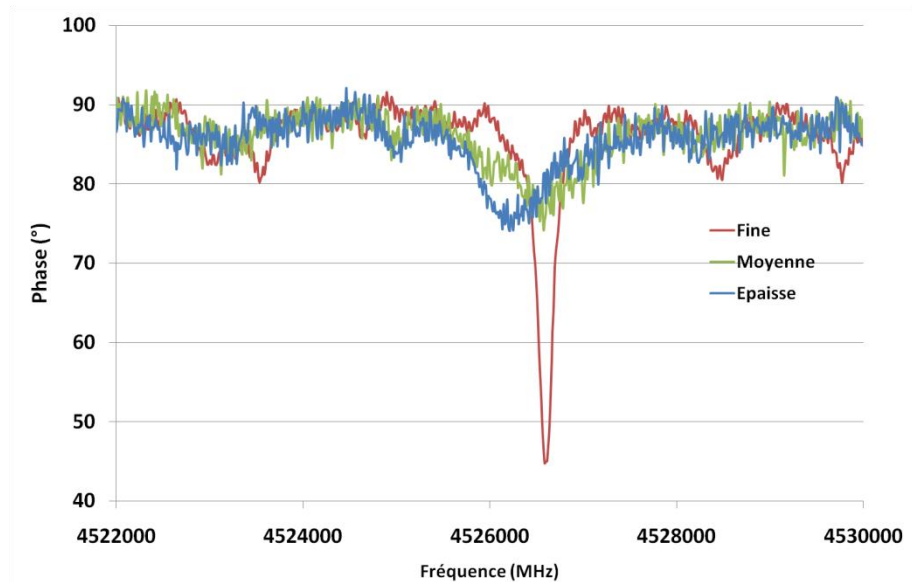
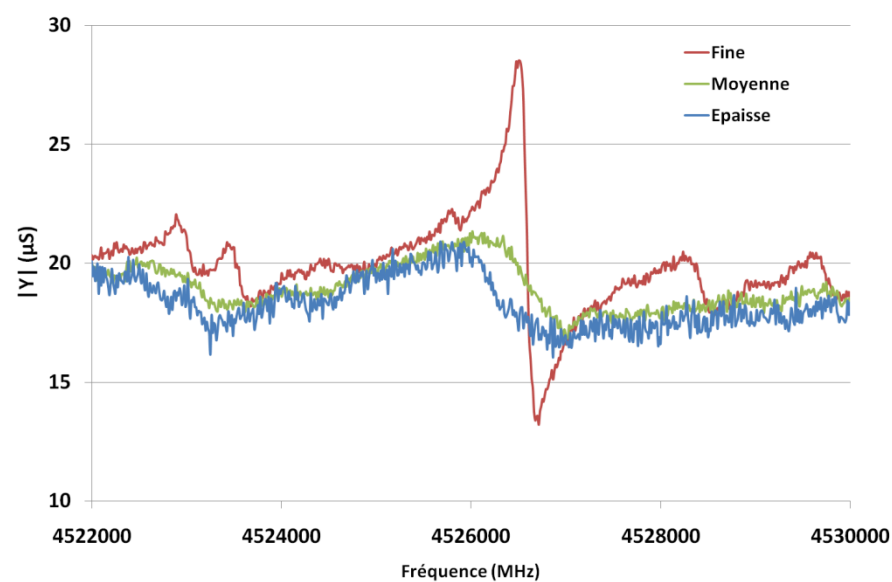


Figure 5.21 - Mesures d'admittance (module et phase) de différentes épaisseurs de couches de glycérol déposées à la surface du transducteur

| Couche | f_r (MHz) | f_a (MHz) | Δf_{x-fine} (Hz) <i>avec x = moyenne ou épaisse</i> | Q_r | $ Y _{max}$ (μS) | $ Y _{min}$ (μS) | ΔY_{x-fine} (μS) <i>avec x = moyenne ou épaisse</i> | ΔY (μS) | $\Delta \phi$ (°) |
|---------|-------------|-------------|--|-------|-------------------------|-------------------------|---|------------------------|-------------------|
| Fine | 4,5265 | 4,5267125 | 0 | 28290 | 28,51025 | 13,21432 | 0 | 15,29593 | 47,47454 |
| Moyenne | 4,5260125 | 4,526975 | -487,5 | 5871 | 21,34247 | 16,78401 | 7,16778 | 4,55846 | 18,04309 |
| Epaisse | 4,525925 | 4,5268625 | -575 | 9051 | 20,89194 | 16,03234 | 7,61831 | 4,8596 | 18,03871 |

Tableau 5.5 – Paramètres associés aux mesures des différentes épaisseurs de glycérol à la surface du capteur.

5.4.3 Mesure d'une masse de résine déposée sur la surface sensible

En plus d'une caractérisation en milieu liquide, nous avons souhaité vérifier quantitativement que notre résonateur était capable de détecter une faible masse comme nous l'avons présenté dans la section 2.7.1. Pour valider le comportement du capteur vis-à-vis d'une masse, nous avons déposé plusieurs couches de résine S1805G2 ($\eta = 5.3 \cdot 10^{-3}$ Pa.s, $\rho = 1016$ kg.m⁻³) sur la surface sensible du capteur et réaliser des mesures entre chaque itération. Nous avons déposé la résine par spin coating afin d'avoir à chaque itération des couches de 0.5 μ m d'épaisseur. La masse de chaque couche déposée est d'environ 200 μ g. La Figure 5.22 montre les résultats de ces mesures réalisées sur 3 dispositifs différents (en couleurs) ainsi que la réponse en masse théorique du capteur (en pointillé).

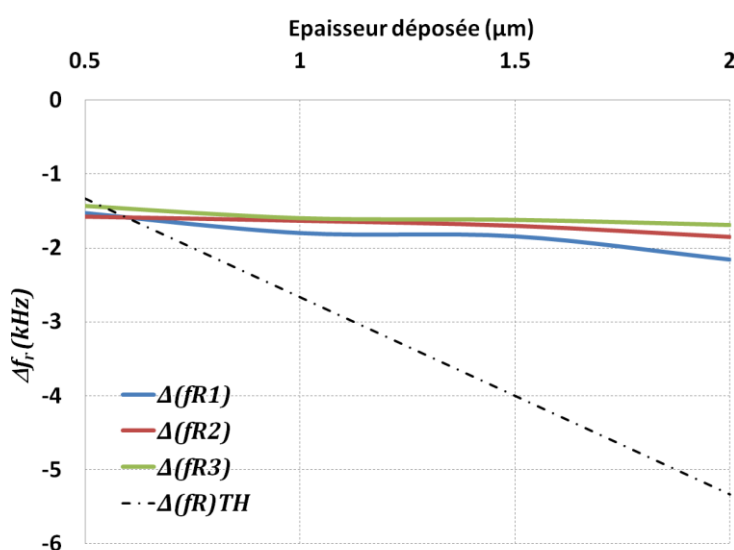


Figure 5.22 - Décalage en fréquence induit par l'ajout de masse sur trois dispositifs (courbes en couleur) et réponse théorique (en pointillé)

Sur ce schéma, nous observons un décalage des fréquences de résonance vers les basses fréquences. Il y a adéquation entre le décalage en fréquence lié au dépôt de 0.5 μ m de résine ; ce dépôt engendre une variation en fréquence théorique de l'ordre de 1.34kHz pour l'écart relatif sur les variations théoriques et expérimentales de fréquence se situe entre 7 et 13% selon les échantillons. Le tracé expérimental n'est plus cohérent avec le tracé théorique pour des couches de résine plus épaisses. Pour un ajout de masse de 800 μ g (correspondant à 4 couches de résine), le décalage mesuré est d'environ 2kHz alors que le décalage théorique est de 5.3kHz. De plus, nous voyons sur le tracé du module d'impédance et de la phase que la réponse est atténuée par la viscosité de la couche déposée. Pour ces épaisseurs, le décalage en fréquence n'est donc pas induit par un unique effet de masse mais aussi par un phénomène visqueux.

En appliquant la relation de Kanazawa et Gordon [20], nous pouvons tenter de remonter au coefficient viscoélastique de la résine à l'état polymérisé. Nous obtenons un coefficient de 0.2 Pa.s qui est une valeur cohérente pour une résine polymérisée.

Conclusion

Les premiers tests des dispositifs initiaux ont pu être menés à bien grâce à une interface de mesure sommaire permettant d'adapter le dispositif à l'analyseur de réseau. Les mesures ont été réalisées sur cet appareil utilisé en mode d'impédance. Des membranes de différentes épaisseurs ont pu être testées ainsi que le substrat brut ou aminci. La configuration des électrodes et des membranes est celle fixée lors de la modélisation du dispositif. Les résultats des premières mesures sont mitigés. Les fréquences de résonance sont en accord avec celles estimées lors de la modélisation. Nous retrouvons bien les pics de résonance aux fréquences correspondant à un mode de vibration de cisaillement pour l'harmonique fondamental ainsi que pour les multiples impairs de cette fréquence. Par contre, les amplitudes des signaux sont très faibles et il est difficile de visualiser les pics de résonance sur les membranes minces. Les facteurs de qualité du résonateur ne sont pas, dans ces conditions, satisfaisants pour espérer obtenir une sensibilité suffisante. Les premiers essais en milieu liquide ayant engendré une évaporation rapide du fluide liée à la faible quantité de fluide déposée, nous avons développé des cellules fluidiques. Parallèlement, nous avons développé un banc de mesure complet pour la qualification des dispositifs. Le banc de mesure est composé d'une enceinte permettant de maîtriser les conditions extérieures grâce à un système de régulation thermique et la possibilité de travailler sous vide ou en atmosphère neutre. Un circuit fluidique a aussi été conçu pour acheminer différents fluides vers les zones actives du capteur et pour permettre d'alterner interactions biologiques en liquide et rinçages et mesures en air ou vide. Les relevés de température, de pression dans l'enceinte, de pression dans le circuit fluidique sont enregistrés et corrélés à la mesure du dispositif. Ce banc de mesure et les interfaces électriques et fluidiques associées permettent des mesures très rapides et sans collage ni soudures.

Après la mise en œuvre du banc de test, nous avons repris les mesures sur des dispositifs. Suite aux résultats obtenus lors des premiers essais, nous avons modifié la géométrie de capteur en réduisant l'espacement inter-électrodes à 0.2 mm et ajouté dans le protocole de réalisation une étape supplémentaire visant à supprimer la couche désorganisée à la surface de l'échantillon. Nous n'avons pas mené d'essai sur des membranes car les essais précédents avaient montré un couplage entre le mode de résonance dans la membrane et celui dans le substrat. Nous avons obtenu une amplitude en air beaucoup plus importante ainsi qu'un facteur de qualité élevé sur le substrat brut. Néanmoins, les résultats restent inférieurs aux valeurs attendues. Ceci est essentiellement lié à la propagation du signal dans la largeur du wafer qui s'il est fixé sur un bord atténue considérablement la vibration. En optant pour une interface fluidique simplement collée sur notre capteur et grâce à une mesure en transmission, nous avons pu vérifier la propagation de cette onde sur la largeur du wafer. Afin d'éviter cette perte d'énergie par les encastrement, il faut donc travailler sur le confinement de l'onde dans la zone de résonance délimitée par la membrane. Nous avons effectué des essais en milieu liquide. Les résultats ne sont pas complètement satisfaisants pour les mêmes raisons que dans l'air. Néanmoins ces expériences nous ont permis de relier l'évolution des paramètres fréquence, phase et amplitude à la résonance à leurs comportements théoriques.

Références

1. Brozel, M. R.; Stillman, G. E., *Properties of Gallium Arsenide third edition*. INSPEC ed.; London, 1996.
2. Blakemore, J. S., Semiconducting and other major properties of gallium arsenide. *Journal of Applied Physics* **1982**, 53, (10), R123-R181.
3. Soderkvist, J.; Hjort, K., The piezoelectric effect of GaAs used for resonators and resonant sensors. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1994**, 4, (1), 28.
4. Nirschl, M.; Reuter, F.; Voros, J., Review of Transducer Principles for Label-Free Biomolecular Interaction Analysis. *Biosensors* **2011**, 1, (3), 70-92.
5. Söderkvist, J., Activation and detection of mechanical vibrations in piezoelectric beams. *Sensors and Actuators A: Physical* **1992**, 32, (1-3), 567-571.
6. Miao, J.; Hartnagel, H. L.; Weiss, B. L.; Wilson, R. J., Improved free-standing semi-insulating GaAs membranes for sensor applications. *electronics letters* **1995**, 31, (13), 1047-1049.
7. Hjort, K., Gallium arsenide micromechanics : a comparison to silicon and quartz. Gallium Arsenide Applications Symposium. GAAS 1994, 28-30 April 1994, Turin, Italy, pp. 65.
8. Dehé, A.; Peerlings, J.; Pfeiffer, J.; Riemenschneider, R.; Vogt, A.; Streubel, K.; Künzel, H.; Meissner, P.; Hartnagel, H. L., III-V Compound semiconductor micromachined actuators for long resonator tunable fabry-pérot detectors. *Sensors and Actuators A: Physical* **1998**, 68, (1-3), 365-371.
9. Goswami, N.; Lal, K.; Miao, J.; Hartnagel, H. L., Microfabrication and characterization of gallium arsenide membranes for force sensor applications. *Indian journal of pure & applied physics* **2007**, 45, (4), 5.
10. Nedbal, J.; Klier, E., Piezoelectric resonators of semiinsulating GaAs. *physica status solidi (a)* **1995**, 148, (1), 329-340.
11. Poplavko, Y. M.; Pereverzeva, L. P. In *Volumetric piezoelectric effect and artificial pyroelectricity in GaAs*, Gallium Arsenide Application Symposium GAAS 96, Paris (France), 1996; Paris (France), 1996; pp 1-4.
12. Garrido, J. A. Piezoelectric Biochemical Sensors.
http://www.wsi.tum.de/Portals/0/Media/Lectures/20082/98f31639-f453-466d-bbc2-a76a95d8dead/BiosensorsBioelectronics_lecture9.pdf
13. Roland, I.; Masson, S.; Ducloux, O.; Le Traon, O.; Bosseboeuf, A., GaAs-based tuning fork microresonators: A first step towards a GaAs-based coriolis 3-axis Micro-Vibrating Rate Gyro (GaAs 3-axis μ CVG). *Sensors and Actuators A: Physical* **2011**, 172, (1), 204-211.
14. Huang, Q.-A. In *GaAs piezoelectric modulated resistors for sensor*, International Conference on Solid-State Sensors and Actuators, TRANSDUCERS '91, San Fransisco (CA, USA), 1991; San Fransisco (CA, USA), 1991; pp 916-919.
15. Seidel, H.; Csepregi, L.; Heuberger, A.; Baumgartel, H., Anisotropic Etching of Crystalline Silicon in Alkaline Solutions. *Journal of The Electrochemical Society* **1990**, 137, (11), 3612-3626.
16. Friedt, J.-M., Introduction à la microbalance à quartz : aspects théoriques et expérimentaux. *Bulletin de l'union des physiciens* **2003**, 852, 429-440.
17. Skládál, P., Piezoelectric quartz crystal sensors applied for bioanalytical assays and characterization of affinity interactions. In scielo: 2003; Vol. 14, pp 491-502.
18. IVAN, I. A. Utilisation des résonateurs piézoélectriques fonctionnant en mode d'épaisseur pour la réalisation des capteurs. Université de Franche-Comté, Besançon, 2006.
19. Martin, S. J.; Granstaff, V. E.; Frye, G. C., Characterization of a quartz crystal microbalance with simultaneous mass and liquid loading. *Analytical Chemistry* **1991**, 63, 2272-2281.
20. Kanazawa, K. K.; Gordon, J. G., Frequency of a quartz crystal microbalance in contact with liquid. *Analytical Chemistry* **1985**, 57, 1770-1771.
21. Kardous, F.; El Fissi, L.; Friedt, J. M.; Bastien, F.; Boireau, W.; Yahiaoui, R.; Manceau, J. F.; Ballandras, S., Integrated active mixing and biosensing using low frequency vibrating mixer and Love-wave sensor for real time detection of antibody binding event. *Journal of Applied Physics* **2011**, 109, (9), 094701-8.

Conclusion générale

Ces trois années de thèse m'ont permis d'aborder deux vastes champs disciplinaires que sont, d'une part, la modélisation, la conception, la microfabrication et caractérisation de résonateurs à ondes de volume et, d'autre part, la caractérisation de la biofonctionnalisation d'une surface. Les travaux présentés dans ce mémoire s'inscrivent dans le cadre de la conception d'un biocapteur passif utilisable en milieu liquide en vue de la détection et quantification d'analytes dans un milieu biologique complexe.

Nous avons décomposé l'étude en cinq parties.

Dans la première partie, nous avons proposé un état de l'art des biocapteurs qui constituent la référence actuelle puis nous nous sommes focalisés sur les capteurs à ondes acoustiques. Ces capteurs de masse sont très flexibles quant aux types de molécules pouvant être détectées car le caractère générique de leur principe de détection permet la transduction sensible d'une large variété de molécules biologiques, allant des anticorps aux plus petites molécules. Il en ressort que les capteurs à ondes de volume et à excitation latérale réunissent les avantages d'une bonne sensibilité gravimétrique, d'une utilisation en milieu liquide et d'une bonne capacité de miniaturisation. Cette capacité de miniaturisation et d'intégration est renforcée par le choix du matériau utilisé : l'Arséniure de Gallium.

La modélisation analytique et numérique du transducteur a permis d'établir les caractéristiques de la structure du capteur. Il s'agit d'une membrane en GaAs monocristallin semi-isolant. Ce matériau permet d'atteindre sur le mode de cisaillement d'épaisseur avec une excitation latérale des coefficients de couplage intéressants (6.7%) sur une coupe commerciale (100). Nous avons appliqué le modèle électrique du capteur en utilisant les modèles de Butterworth Van Dyke en air et en milieu liquide visqueux pour déterminer les paramètres équivalents. La limite de sensibilité du dispositif est estimée à 0.1 ng.Hz^{-1} pour une membrane d'épaisseur égale à $50 \text{ }\mu\text{m}$ ($f_r = 33.4 \text{ MHz}$ pour le fondamental) et une surface d'échange de 12 mm^2 ce qui le positionne au niveau des meilleures systèmes commerciaux. Une sensibilité plus importante sera atteinte pour des membranes plus fines et l'utilisation de rang de partiel plus élevé.

Le troisième chapitre est consacré à la microfabrication du dispositif. Le choix du matériau a été en grande partie guidé par les nombreux développements de procédés de microfabrication salle blanche. Le procédé retenu pour l'usinage de la structure est l'usinage chimique anisotrope, procédé de masse faible coût. Une étude approfondie des conditions opératoires (composition, concentration des bains, température, agitation) a été menée afin de bien comprendre les phénomènes mis en jeu lors de la réaction et pour obtenir un procédé simple, reproductible et donnant satisfaction par rapport au cahier des charges (épaisseur, rugosité, planéité, microstructuration de surface). Les bains retenus pour les différentes étapes sont composés de différents ratios d'acide orthophosphorique et de peroxyde d'hydrogène.

La quatrième partie concerne la biofonctionnalisation de la surface. Nous avons montré que le substrat GaAs était particulièrement intéressant puisque nous pouvons obtenir cette interface biochimique directement sur le substrat en utilisant des thiols si la surface a été désoxydée ou des silanes par exemple si elle est oxydée. Le choix s'est porté sur une surface désoxydée et nous avons cherché à optimiser la composition de la surface thiolée (90% C11/10% C16) pour obtenir une couverture dense qui apportera spécificité et sensibilité au capteur en éliminant l'adsorption non-spécifique de molécules. Plusieurs outils de caractérisation ont été mis en œuvre pour obtenir ce résultat : AFM, spectroscopie de masse, XPS. L'efficacité de la fonctionnalisation dépend de la surface du GaAs (densité en Ga ou en As, liaison et charge ionique de surface) et la structuration de surface du GaAs obtenue par usinage chimique prendra toute son importance pour l'optimisation de l'efficacité de la fonctionnalisation.

Le chapitre cinq est consacré aux essais en air et en milieu liquide du transducteur sans couche de fonctionnalisation. Les mesures ont été réalisées sur un analyseur de réseau en mode impédance. La qualification du dispositif résonant a nécessité la conception d'un banc de mesure adapté. Ce banc, régulé en température, permet une mesure sous vide / en air / sous gaz inerte et en milieu liquide. Des interfaces électriques et fluidiques ont été développées afin de pouvoir changer facilement de dispositifs à mesurer. Un programme d'acquisition permet de récupérer l'ensemble des mesures. Les résultats expérimentaux ont été confrontés aux réponses théoriques. L'ensemble des échantillons testés a révélé divers problèmes, le principal étant le mauvais piégeage de l'énergie dans la membrane. Il s'avère alors qu'une partie de l'énergie de la membrane est transférée dans la zone massive de la structure. L'encastrement amortit alors considérablement la réponse au niveau de la membrane. Nous avons observé ce couplage entre la membrane et le substrat massif aussi bien au niveau expérimental qu'au niveau théorique par simulation éléments finis. Néanmoins, des mesures en milieu liquide sur des échantillons non usinés auxquels nous avons associé une cellule fluidique usinée chimiquement, ont permis de valider certains résultats théoriques (fréquence de résonance, évolution de la réponse en amplitude et en phase en fonction de la viscosité du liquide) même si la résistance motionnelle reste anormalement élevée (de quelques centaines d'ohm à quelques k Ω).

Ce travail a permis donc de réunir un ensemble d'éléments nécessaires à la conception d'un biocapteur résonant GaAs. Les résultats expérimentaux préliminaires ne sont pas aussi bons que prévus mais une analyse fine des mesures nous permet d'identifier un certain nombre d'améliorations à apporter. Dans l'objectif d'atteindre de hautes sensibilités pour passer à la détection en milieu biologique, il est nécessaire d'effectuer des modifications sur la forme de la structure du capteur pour confiner les vibrations dans la membrane. Une nouvelle structure piégeant les ondes sous la membrane devrait être proposée utilisant les mêmes techniques de microfabrication et intégrant la cellule fluidique. Une autre perspective à ce travail pourrait être d'utiliser les phénomènes de couplage entre substrat et membrane pour réaliser des résonances localisées. A plus long terme, il serait intéressant d'étendre ce type de capteur sous forme de réseau afin de permettre la détection simultanée de plusieurs molécules cibles impliquées dans le diagnostic d'une maladie.

Lexique

| | | |
|-----------------|--|--|
| AFM | Atomic Force Microscope | Microscope à force atomique |
| BAW | Bulk Acoustic Wave | Onde acoustique de volume |
| BVD | Butterworth Van Dyke | Modèle analytique équivalent du résonateur |
| EDC | 1-ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl]carbodiimide | |
| GaAs | Gallium Arsenide | Arséniure de Gallium |
| LFE | Lateral Field Excitation | Champ d'excitation latéral |
| MALDI-TOF | Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time of Flight | |
| MEB | Microscope électronique à balayage | |
| MEMS | Micro Electro Mechanical System | Microsystème électromécanique |
| MHDA | 16-mercapto-1-hexadecanoic acid | |
| MS | Mass spectrometry | Spectrométrie de masse |
| MS ² | Tandem Mass Spectrometry | Spéctrométrie de masse en tandem |
| MUDO | 11-mercapto-1-undecanol | |
| NEMS | Nano Electro Mechanical System | Nanosystème électromécanique |
| NHS | N-hydroxysuccinimide | |
| QCM | Quartz Crystal Microbalance | Microbalance à Quartz |
| RSA | Rat Serum Albumine | Albumine sérum de rat |
| SAM | Self Assembled Monolayer | Monocouche auto-assemblée |
| SPR | Surface Plasmon Resonance | Résonance des plasmons de surface |
| TFE | Transversal Field Exctiation | Champ d'excitation transverse |
| TSM | Transverse Shear Mode | Mode de cisaillement transverse |
| XPS | X-ray photoelectron spectroscopy | Spectrométrie photoélectronique à rayon X |

Résumé

La recherche de biomarqueurs pour le dépistage, le diagnostique ou le traitement de maladie requiert le développement de dispositifs hautement sensibles alliant un faible coût d'analyse, un faible encombrement et une réponse rapide. Dans ce cadre, nous développons un biocapteur acoustique utilisant des ondes de volume pour permettre la détection d'analyte particulière dans un milieu biologique complexe. La géométrie retenue est une membrane résonante à excitation et détection piézoélectriques intégrées vibrant sur un mode de cisaillement d'épaisseur généré par un champ latéral. Le transducteur utilise les propriétés particulières de l'arséniure de gallium pour assurer une détection sensible et sélective, aussi bien grâce à ses propriétés piézoélectriques que ses possibilités de microfabrication ou de biofonctionnalisation. Dans un premier temps, nous avons dimensionné le dispositif et modélisé son comportement. Une sensibilité à un ajout de masse a pu être estimée à environ 0.1 ng.Hz^{-1} . Nous avons ensuite envisagé la microfabrication du capteur en utilisant uniquement des techniques de microfabrication à faible coût (gravure humide et photolithogravure). Ceci a permis d'obtenir des membranes épaisses ($50 \mu\text{m}$) de géométrie et d'état de surface maîtrisés. Nous avons ensuite envisagé la réalisation de la biointerface grâce au développement d'une interface chimique spécifique permettant d'immobiliser covalamment une monocouche dense de protéine à la surface du GaAs. Cette monocouche a été caractérisée par une analyse originale couplant la microscopie à force atomique (AFM) et la spectrométrie de masse MALDI-TOF. Enfin, les interfaces fluidiques et électriques ont été mises au point et ont permis de tester le dispositif par une mesure d'impédance.

Abstract

The biomarkers detection for screening, diagnosis or treatment of disease requires the development of highly sensitive devices combining low cost of analysis, a small size and quick responses. In this context, we develop a biosensor using bulk acoustic wave to allow the detection of specific analyte in a complex biological medium. The geometry used is a piezoelectric resonant membrane using shear mode vibration excited by lateral field. The transducer uses the specific properties of gallium arsenide to provide a highly sensitive and selective detection thanks to its piezoelectric properties and also its microfabrication or biofonctionnalisation facilities. First, we dimensioned the device and modeled its behavior. A sensitivity to adding mass has been estimated at 0.1 ng.Hz^{-1} . Then, we considered the sensor microfabrication using only low cost process (photolithography and wet etching). Through these processes, we obtained well formed thick membranes ($50\mu\text{m}$) with specific surface properties and microstructuration. Next, we realize the biointerface through the development of a specific chemical interface in order to immobilize a dense protein monolayer covalently attached to the GaAs surface. This monolayer was characterized by an original analysis coupling the atomic force microscopy and the mass spectroscopy MALDI-TOF. Finally, fluid and electrical interfaces have been developed and we tested the device by impedance measurements.

The logo for the École doctorale SPIM. It features a solid yellow horizontal bar on the left, followed by the letters 'SPIM' in a white, sans-serif font.

■ École doctorale SPIM 16 route de Gray F - 25030 Besançon cedex

■ tél. +33 [0]3 81 66 66 02 ■ ed-spim@univ-fcomte.fr ■ www.ed-spim.univ-fcomte.fr

The logo of the University of Franche-Comté. It consists of a stylized 'U' and 'FC' in a bold, black, sans-serif font. A small yellow vertical bar is positioned between the 'U' and 'FC'. Below this, the words 'UNIVERSITÉ' and 'DE FRANCHE-COMTÉ' are written in a smaller, black, sans-serif font.